16 T09

£275-

22503110996

MANUAL

DE

HISTOLOGÍA NORMAL

Y DE

TÉCNICA MICROGRÁFICA

PARA USO DE ESTUDIANTES

POR

S. RAMÓN CAJAL

Profesor numerario de Histología y Anatomía patológica en la Universidad de Madrid.

6.ª EDICIÓN NOTABLEMENTE AUMENTADA

Con 520 grabados en negro y en color.

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

WELLCOME
LIBRARY
General Collections
M
7363

MANUAL

DE

HISTOLOGÍA NORMAL

MANUAL

DE

HISTOLOGÍA NORMAL

Y DE

TÉCNICA MICROGRÁFICA

PARA USO DE ESTUDIANTES

POR

S. RAMÓN CAJAL

Profesor numerario de Histología y Anatomía patológica en la Universidad de Madrid.

6.ª EDICIÓN NOTABLEMENTE AUMENTADA

Con 520 grabados en negro y en color.

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

Es propiedad del autor.

Prólogo de la primera edición.

La presente obrita de HISTOLOGÍA Y TÉCNICA es un resumen, con aquellas reformas exigidas por los progresos de la ciencia, de nuestro MANUAL DE HISTOLOGÍA NORMAL. Hemos creído que un compendio en el cual, dejando á un lado discusiones embarazosas é hipótesis mudables, se presenten condensados tanto los principios de la técnica micrográfica, como los hechos demostrados de estructura de células y tejidos, podría prestar á médicos y alumnos positivos beneficios : á éstos sirviéndoles de guía en los exámenes y trabajos de laboratorio; á aquéllos, cuyas ocupaciones clínicas les hacen recelar de toda obra algo difusa ajena á la patología práctica, recordándoles los datos indispensables para la más fácil interpretación de los fenómenos de fisiología normal y patológica.

En las descripciones de células y tejidos hemos procurado conciliar la concisión con la claridad expositiva, sin renunciar al propósito, que todo escritor naturalista debe tener, de reflejar lo más exactamente posible la fase actual de la ciencia. Sólo hemos descartado aquellos trabajos modernos no sancionados todavía por la experiencia, ó aquellas inducciones y teorías que, por su carácter filosófico, entran más bien en la esfera de la Biología general.

De todos los tejidos, el nervioso es el que hemos tratado con más latitud, lo que se justifica por la gran impul-

sión que su conocimiento ha recibido en estos últimos lustros, y por la importancia fisiológica de los recientes progresos. Fieles á nuestro sistema, sólo hemos puesto los descubrimientos ajenos ó propios que, habiendo sido confirmados por las autoridades más considerables en Neurología, pueden considerarse como adquisiciones definitivas de la ciencia.

Convencidos de que las descripciones de objetos macroscópicos ó microscópicos no pueden ser claras sin ir acompañadas del objeto mismo ó de su imagen, hemos intercalado en el texto un gran número de grabados, copiados, en su mayor parte, de nuestras preparaciones originales.

Madrid 10 de Junio de 1895.

Prólogo de la sexta edición.

A ruego de algunos compañeros, deseosos de un libro de Histología algo más extenso que la primera edición de esta obra, hemos introducido en la actual aumentos y mejoras de importancia. Los capítulos más ampliados son los correspondientes á la estructura celular, la mitosis, conjugación de las células sexuales, la textura de las neuronas, de las células musculares y del tejido glandular, etc., etc. Con relación á la quinta edición, las nuevas figuras pasan de 90 y las páginas adicionadas exceden de 100.

Hemos procurado también dar una idea, siquiera sea somera, de los trabajos de aventajados histólogos españoles, á fin de rendirles merecido tributo de admiración y estima, y promover, de pasada, la afición á la investigación biológica en nuestro país.

Atentos, sin embargo, á conservar á la obra el carácter de libro elemental, casi todas las adiciones figuran en el texto con caracteres menudos (salvo las descripciones de hechos nuevos de verdadera importancia); por tanto, quien aspire, no á una información detallada del estado actual de la ciencia, sino á prepararse para los exámenes, se atendrá al texto de letra gruesa, que ha sido poco modificado.

Esperamos que con las citadas mejoras, la edición actual no será indigna del favor dispensado á las anteriores.

Madrid 30 de Agosto de 1914.

PARTE PRIMERA

TÉCNICA GENERAL

CAPÍTULO I

TÉCNICA GENERAL Y SU DIVISIÓN

Instrumentos de observación. — Microscopio simple.

Los recursos prácticos utilizados por el histólogo para la demostración de las partes elementales del organismo, forman la materia de la *técnica histológica*.

En la *técnica general* es preciso distinguir las siguientes partes: 1.ª, instrumentos de observación y sus accesorios; 2.ª, reactivos; 3.ª, métodos histológicos, y 4.ª, procedimientos de conservación.

A.—*Instrumentos de observación.—Microscopio.*

El *microscopio* es un instrumento óptico que, interpuesto entre el ojo y un objeto próximo, nos hace percibir en éste detalles imposibles de observar á simple vista. Alcánzase este resultado aprovechando la propiedad que poseen las lentes convergentes de producir, en determinadas condiciones, imágenes reales ó virtuales amplificadas.

Si el instrumento amplificante consta de una sola lente ó sistema de lentes, se denomina *microscopio simple;* pero si en él se combinan los poderes amplificantes de dos lentes ó sistemas de lentes, toma la designación de *microscopio compuesto*.

MICROSCOPIO SIMPLE

Para mayor claridad expositiva, distinguiremos en el microscopio simple: 1.°, el instrumento teórico despojado de todo accesorio; 2.°, el instrumento práctico, es decir, el microscopio simple adicionado de los detalles y disposiciones exigidas por la facilidad y eficacia de la observación.

Microscopio simple esquemático. — Está representado por una lente biconvexa ó plano-convexa, dispuesta de tal suerte, que

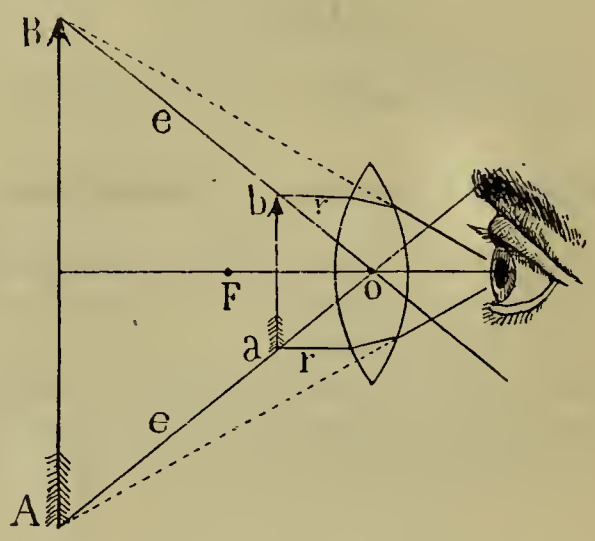

Fig. 1. — Formación de las imágenes en el microscopio simple.

suministra una imagen virtual derecha y más grande que el objeto (1).

Para comprender el mecanismo de esta amplificación, es preciso recordar que las lentes convergentes dan, según las condiciones en que se emplean, dos especies de imágenes amplificadas: *virtuales* y *derechas* cuando el objeto examinado se sitúa entre la lente y el foco principal de ésta: *reales* é *invertidas,*

(1) El alumno debe tener presentes, al estudiar lo que sigue, los principios generales de la óptica, y especialmente las propiedades de las lentes y espejos. Aquí recordaremos tan sólo aquellas nociones de inmediata aplicación á la teoría y práctica del microscopio.

cuando el objeto se coloca más allá del foco principal. Si el objeto coincide con el foco, los rayos emergen paralelos de la lente y no hay imagen.

En el microscopio simple, el objeto yace entre la lente y su foco principal. Como puede verse en la figura 1, los rayos incidentes *r r,* partidos de las extremidades del objeto *a b,* atraviesan desde luego la lente, aproximándose el eje principal; después se inclinan todavía más en tal sentido, y alcanzan el ojo del observador, quien, en virtud del principio de la proyección ó exteriorización de las impresiones retinianas en la última dirección seguida por los rayos luminosos, percibe una imagen virtual colocada en B A, es decir, á la distancia de la visión distinta.

La construcción teórica de la imagen se logra fácilmente, trazando primeramente el eje principal y luego los ejes secundarios *e e* (1) que enlazan los extremos del objeto con el centro de la lente; á seguida, se dibujan los rayos incidentes *r r,* que, prolongados á través de la lente, donde se desvían según los principios de la refracción, penetran en el ojo del observador. La imagen virtual A B, es proyectada por la retina precisamente en el paraje donde la prolongación hacia el objeto de los ejes secundarios corta la continuacion de los rayos incidentes.

La amplificación, ó sea la relación entre *a b* y A B $\left(\frac{AB}{ab}\right)$, se calcula fácilmente por la fórmula $a = \frac{D}{F}$, en la cual *a* representa el aumento, D la distancia de la lente á la imagen virtual ó distancia de la visión distinta, y F, la longitud focal. Esta fórmula da por supuesto que el objeto está tan cerca del foco principal, que ambas distancias, la frontal y la focal, pueden reputarse idénticas. En realidad, dicha fórmula expresa el máximo de aumento de una lente utilizada como microscopio simple; si se abrevia la distancia del objeto á la lente, la amplificación disminuye y la fórmula no es aplicable, pues da valores excesivamente grandes.

(1) Recuérdese que se llaman ejes secundarios los rayos luminosos que, por pasar por el centro de la lente, no sufren desviación angular á la emergencia de ésta.

De la fórmula del microscopio simple se infiere que, cuanto menor sea la distancia focal, mayor será la amplificación, porque el divisor F disminuye, y D, ó la distancia de la visión distinta, permanece idéntica (1).

La distancia focal (que en las lentes biconvexas de vidrio corresponde poco más ó menos al centro de corvadura), disminuye con el radio de la lente. De dos lentes esféricas, la de mayor potencia será la más pequeña; y como el radio puede achicarse indefinidamente, resulta que el aumento teórico del microscopio simple es indefinido. Con todo, en la práctica, rara vez puede pasarse de aumentos de 200 á 300, por la dificultad de tallar lentes suficientemente pequeñas; fuera de que esta amplificación se obtiene mucho más fácilmente con el microscopio compuesto.

Microscopio simple en la práctica (fig. 2). — El microscopio simple, dispuesto para la observación, consta substancialmente de un pie macizo de metal, que soporta una columna vertical. De un lado de ésta arranca una platina ó ménsula horizontal perforada, donde se coloca la preparación destinada al examen. En lo alto de la columna, se ve un anillo ó pinza circular que sirve para sostener las lentes ó dobletes, y este mismo anillo está unido á un prisma que se mueve en el espesor de aquélla, á favor de una cremallera. Para procurar iluminación por transparencia, el pie mantiene un espejo cóncavo ó plano, susceptible de inclinarse en todos sentidos. De los lados de la platina ó de las partes laterales del pie, según los distintos modelos, arrancan unas alas ó prolongaciones, cuyo oficio es sostener las manos durante las maniobras de preparación (fig. 2, H).

Los modelos de microscopios simples son muy numerosos. La descripción precedente se aplica, no obstante, á casi todos ellos.

En la figura 2 representamos uno de estos instrumentos construídos por Reichert.

(1) La fórmula citada es suficientemente exacta, pero si se desea mayor precisión, debe preferirse la fórmula de Wund: $A = \left(\frac{V-e}{f}\right) + 1$. O sea: aumento (A) igual á la distancia de la visión distinta (V), menos la del ojo á la lente *(e)* dividida por la distancia focal y añadida de la unidad. Como la distancia de la visión distinta varía bastante (de 16 á 30 centímetros), se comprende que la amplificación sea algo diversa para cada observador.

El modelo de la fig. 34, llamado de Braus y Brüner, es binocular, da la sensación del relieve y se emplea para disecar ob-

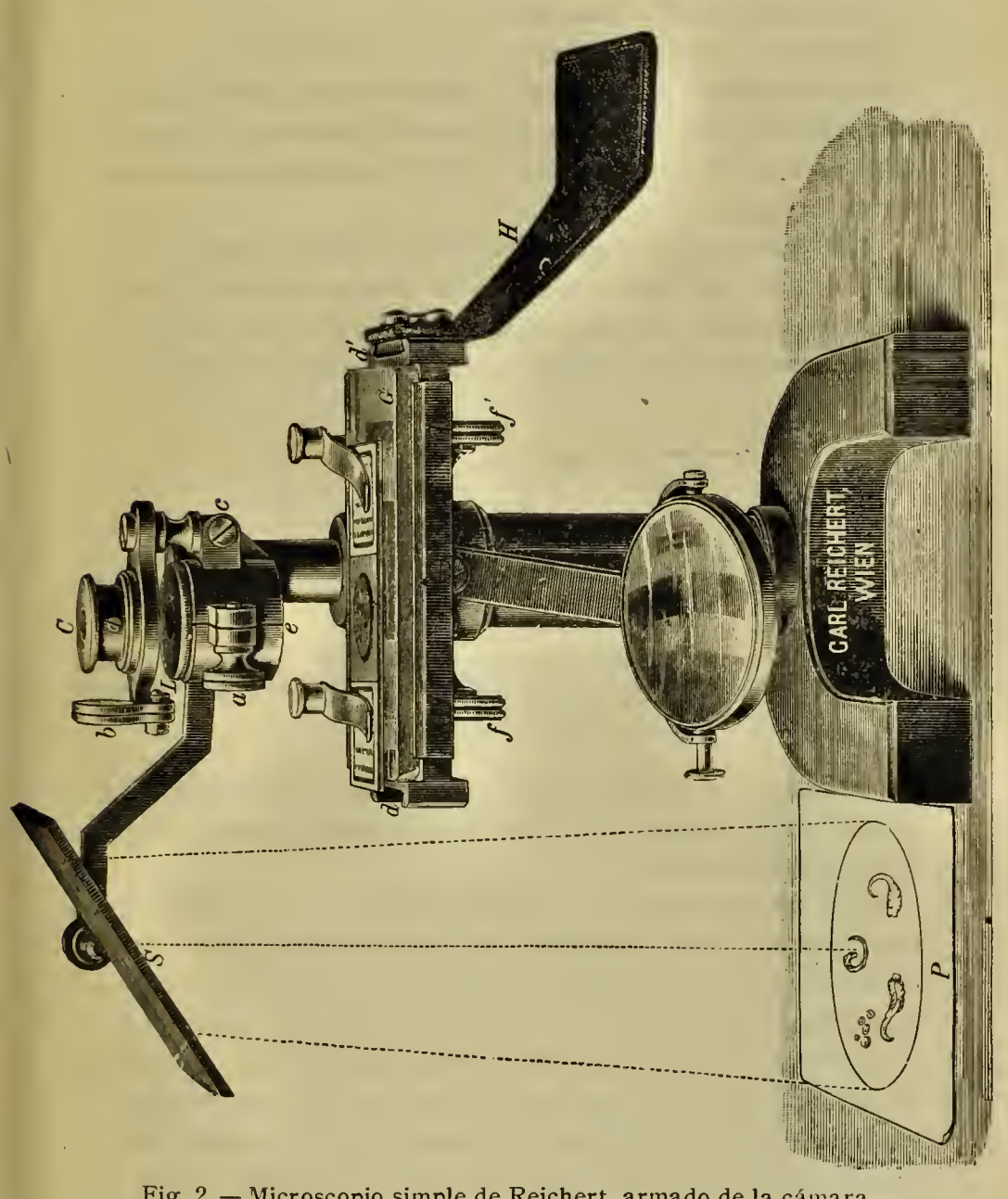

Fig. 2. — Microscopio simple de Reichert, armado de la cámara clara de Abbe.

jetos voluminosos que no pueden montarse en la platina ni reducirse á cortes. Su especial montura permite dirigir el instru-

mento, lo mismo sobre objetos horizontales que sobre objetos de posición vertical. Pero este aparato, como veremos más adelante, es un microscopio compuesto.

Cuando el aumento necesario para las maniobras de la disección fina no debe pasar de dos á cuatro veces, puede emplearse con provecho una simple lente montada sobre un vástago, movible en todas direcciones, á favor de una doble articulación en forma de nuez.

Inútil sería advertir que todos los microscopios simples poseen un juego de dobletes ó de lentes de diversa distancia focal, y, por consiguiente, de aumento distinto. En general, para el objeto á que se destinan, bastará con que se hallen provistos de tres

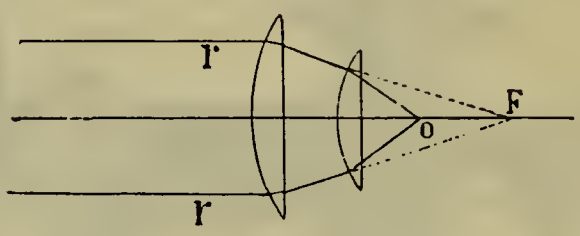

Fig. 3. — Efecto de la combinación de dos lentes en la marcha de dos rayos paralelos; el foco, que sin la segunda lente se hallaría en F, se forma en O.

dobletes, cuyos aumentos sean de 4 á 20 ó 30 diámetros. Las ampliaciones superiores á 30 se logran mucho mejor con el microscopio compuesto.

En el estudio esquemático que acabamos de hacer del microscopio simple, hemos supuesto que cada doblete ó lente se reduce á un cristal viconvexo. En realidad no es así; cada doblete es una combinación de dos cristales plano-convexos separados por un diafragma y sujetos en una misma montura. Las caras planas se dirigen al objeto. Como demuestra la fig. 3, esta combinación en nada altera el mecanismo de formación de la imagen; las dos lentes, colocadas á corta distancia una de otra, acortan el foco, funcionando como una sola, cuyo poder convergente fuese la suma del de las dos.

El arreglo de dos lentes, una inferior de foco largo, otra superior de foco corto, fué ideado por Wollaston, quien se propu-

so, entre otras ventajas, la disminución de la aberración de esfericidad (que aumenta con la convexidad de la lente) y la obtención de amplificaciones relativamente grandes con lentes de distancia frontal bastante considerable. Si en la citada combinación, la lente de foco más corto se pusiera debajo, el espacio destinado á las maniobras de preparación se abreviaría sensiblemente, sin que, por otra parte, ganara nada el poder amplificante.

CAPÍTULO II

MICROSCOPIO COMPUESTO

Teoria del objetivo y del ocular. Doctrina de la visión microscópica según Abbe. Microscopio compuesto en la práctica.

El *microscopio compuesto* consiste esencialmente en un tubo provisto en sus extremos de dos lentes de aumento: la superior, que por aproximarse al ojo del observador se llama *ocular,* y la inferior, que por dirigirse al objeto toma el nombre de *objetivo*.

MICROSCOPIO COMPUESTO TEÓRICO

Opticamente, el microscopio compuesto funciona combinando los dos casos ó condiciones en que las lentes dan imágenes amplificadas : el objetivo opera como una máquina fotográfica ó á la manera de un aparato de proyección, es decir, que por residir el objeto más allá del foco principal, proyecta una imágen real, invertida y amplificada; y el ocular actúa como un microscopio simple, ó sea formando, de la imagen proyectada por el objetivo, una copia virtual todavía más grande, derecha con relación á aquélla, pero invertida con relación al objeto. Para que el ocular pueda funcionar como microscopio simple, es preciso que reciba la imagen de proyección entre el foco principal y la lente superior.

Conocida la teoría del ocular, pues, como acabamos de decir, no es otra que la del microscopio simple, diremos algo de la del objetivo, órgano fundamental del microscopio compuesto.

Teoría del objetivo. — Cuando el objeto está situado más allá del foco principal de una lente, pero sin llegar al doble de la distancia focal, prodúcese una imágen real invertida, y tanto más amplificada cuanto más cerca del foco principal se halla el objeto.

Si éste se aparta hasta el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural.

Para construir la imagen (fig. 4), se trazan, como en la figura 1, el eje principal y los ejes secundarios *c c;* se tiran luego dos rayos incidentes *r r,* los cuales, después de refractarse en la lente y aproximarse á la perpendicular, se entrecruzan, dibujando una imagen invertida y real. Esta imagen se halla justamente en el paraje en que los ejes secundarios *c c,* después de atravesar la lente, cortan los rayos incidentes invertidos.

La imagen se acrece en tamaño y en distancia de proyección, á medida que el objeto se aproxima al foco. Si el objeto coincide

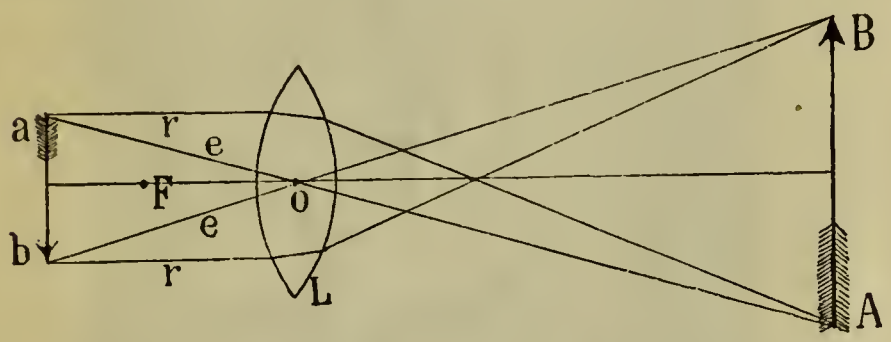

Fig. 4.—Marcha de los rayos luminosos en el objetivo: A, B, imagen; F, foco; *e,* ejes secundarios.

con el foco principal, no hay imagen, porque los rayos emergen de un modo paralelo de la superficie posterior de la lente.

El aumento se calculará con la fórmula que expresa las relaciones existentes entre el foco, la distancia del objetivo y la de la imagen.

Sea *i* la imagen proyectada, *o* el objeto, D la distancia de la imagen á la lente, *d* la de la lente al objeto, *f* la distancia focal y A el aumento. Tendremos:

$$A = \frac{i}{o} = \frac{D}{d} = \frac{f}{d-f}$$

Si el objeto se coloca en el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural, porque siendo $d = 2f$ el último término de la ecuación, puede reducirse á

$$A = \frac{f}{2f-f} = \frac{f}{f} = 1.$$

El examen de la figura 4 y la discusión de la fórmula citada nos darán á entender claramente que:

1.° La imagen amplificada es real é invertida.

2.° El aumento es tanto mayor cuanto más pequeña es la distancia focal.

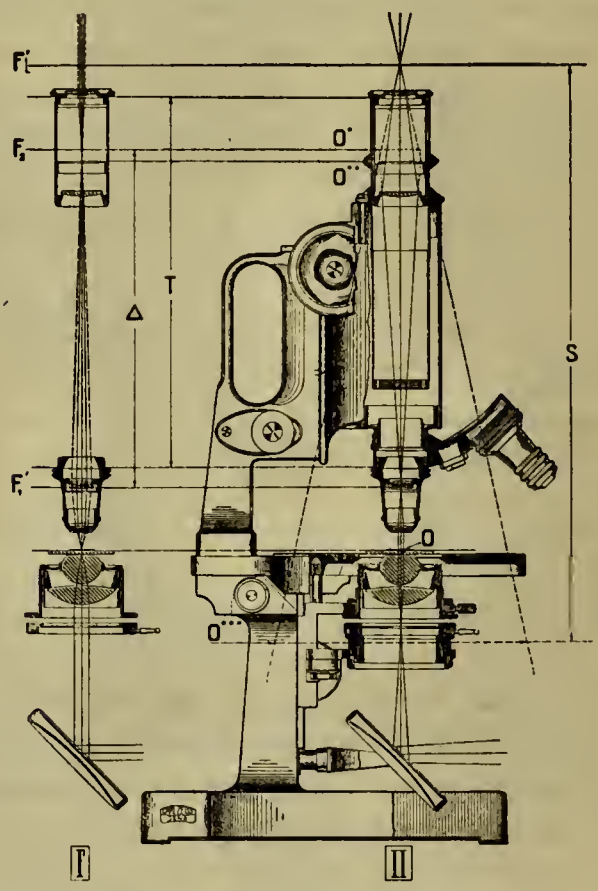

Fig. 5. — Esquema de la marcha de los rayos luminosos en el microscopio. — I, esquema que muestra la marcha de los rayos que atraviesan un punto enfocado de la preparación. — II, esquema de la marcha de los rayos limitantes del campo. — F^1, plano focal posterior del objetivo. — F_2, plano focal anterior del ocular. — F', plano focal posterior del microscopio entero (Zeiss).

3.° Cuanto más se acerque el objeto al foco, más grande resultará la amplificación, y á mayor distancia se proyectará la imagen.

4.° La imagen podrá acrecerse al infinito, cualquiera que fuere la distancia focal, con tal de prolongar suficientemente la

distancia de proyección, disminuyendo progresivamente la distancia del objeto al foco.

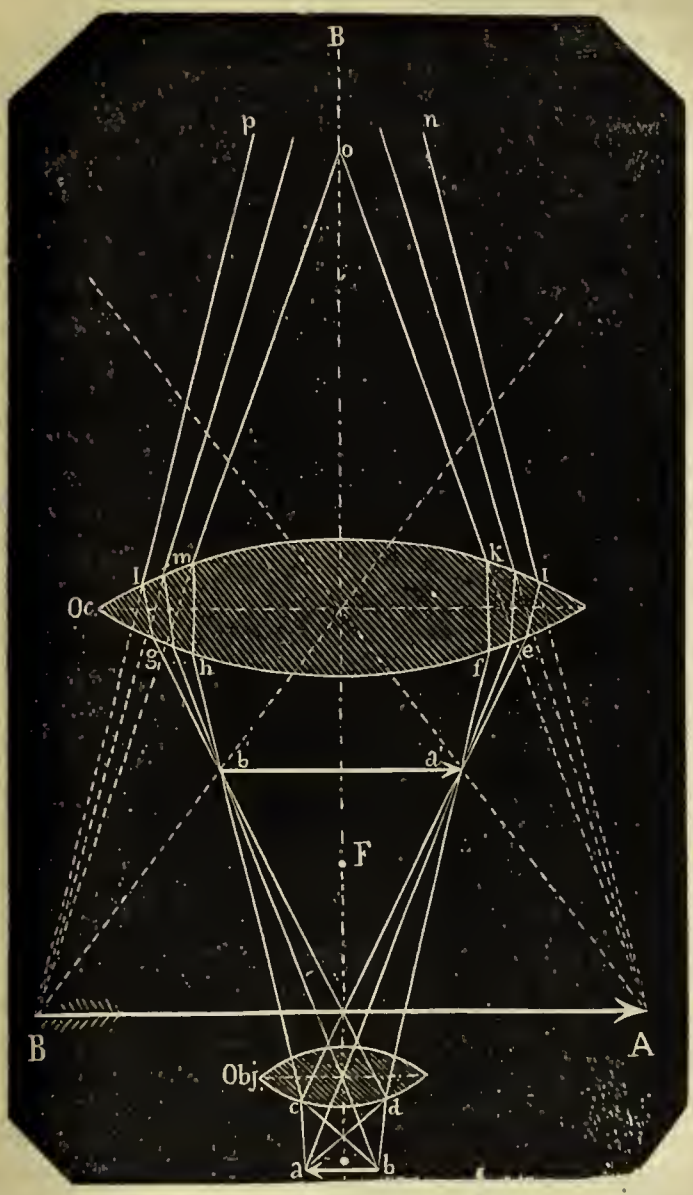

Fig. 6. — Marcha de los rayos y formación de la imagen en el microscopio compuesto.—*Obj.*, objetivo; *Oc.*, ocular; *a b*, objeto microscópico; *b' a'*, imagen real proyectada por el objetivo; A B, imagen virtual engendrada por el ocular.

5.° La amplificación podrá acrecentarse indefinidamente aun para proyecciones á corta distancia, con tal de achicar progre-

sivamente la longitud focal, ó sea el radio de la lente. En esta importante regla se funda la obtención de grandes aumentos en el microscopio compuesto.

Acción combinada de objetivo y ocular. — Después de lo expuesto, nada más fácil que comprender el mecanismo del aumento del microscopio compuesto, como puede verse en las figuras 5 y 6. Del objeto *a b,* proyecta el objetivo (obj.) una imagen real é invertida en *a' b',* es decir, más allá del foco (F) principal del ocular (oc.). En consecuencia, esta última lente transforma la imagen real aumentada *b' a'* en la virtual y todavía más extensa B. A. El observador percibe, pues, la imagen en B A, punto donde los ejes secundarios que pasan por el ocular cortan la prolongación de la última dirección tomada por los emergentes *l p* y *m o,* de un lado, y *k o* y *n i,* de otro (fig. 6).

Del examen de esta figura y de la consideración de las fórmulas antes expuestas, se infieren fácilmente las siguientes proposiciones:

1.ª La imagen crece conforme disminuye el foco del objetivo.

2.ª La magnitud de la imagen con un mismo objetivo aumenta á medida que disminuye la distancia focal del ocular.

3.ª La amplificación total del microscopio crece con el alejamiento del ocular al objetivo, lo que equivale á decir que, cuanto menor sea la distancia entre el objeto y el foco principal del objetivo, más distante y más grande resultará la imagen proyectada que debe amplificar el ocular.

4.ª Teóricamente, todo microscopio podría dar aumentos variables al infinito, con sólo aumentar suficientemente la distancia de proyección, lo que se logra aproximando progresivamente el objeto al foco del objetivo; pero en la práctica sólo son aprovechables los aumentos obtenidos con objetivos de foco corto, por cuanto solamente éstos suministran imágenes fuertemente amplificadas á distancias relativamente cortas. Por esta razón se ha dicho, aunque incorrectamente, que el aumento está en razón inversa de la distancia focal del objetivo.

El aumento del microscopio compuesto se obtiene multiplicando el del objetivo por el del ocular, como expresa la fórmula siguiente, que comprende una de las relaciones que sirven

para calcular la amplificación del objetivo, junto con la tan conocida del microscopio simple:

$$A = \frac{D}{d} \times \frac{D}{F}.$$

Es decir, el aumento es igual á la relación entre las distancias de la imagen al objetivo (D) y la del objeto á la lente *(d)*, multiplicada por la relación entre la distancia de la visión distinta (D) y la distancia focal del ocular (F).

Teoría de la visión microscópica según Abbe (1).—En la imagen del microscopio hay que distinguir dos elementos: la imagen dióptrica ó central que da por proyección los contornos y los colores de los objetos, y se rige por los principios anteriormente expuestos; y los espectros de difracción engendrados por los rayos incidentes al atravesar las finas rayas y asperezas de la preparación. Estos espectros, fundiéndose con el pincel central ó dióptrico en la imagen proyectada, revelan los finos detalles del objeto, de tal suerte que, si por circunstancias especiales, dichos rayos difractados son excluídos de la imagen, el microscopio pierde su poder resolutivo, siendo incapaz de mostrarnos las estrías y otros pormenores delicados de las células y diatómeas.

Abbe ha probado que, si de preparaciones desiguales se admiten, á beneficio de diafragmas especiales, los mismos espectros de difracción, las imágenes aparecerán idénticas; y al revés, dos preparaciones que contengan rayas iguales, se mostrarán diferentes, con tal de admitir en la formación de la imagen diversos espectros.

(1) *Archiv. f. mikros. Anatom.*, Bd. IX, 1873. La teoría de Abbe ha sido confirmada y expuesta por Stephenson: *Experiences à l'appui de la théorie du prof. Abbe sur la vision microscopique,* traducido por van Heurck para su libro *Le microscope*, 4.ª edic., 1891. Crisp ha publicado también un buen resumen: On the influence of Difraccion in microscopique visión. *Journ. Quek. mik. club.*, 1878. Se leerá también con provecho el estudio que á este interesante punto consagra Czapski en el *Zeitschr. für wissenchafliche Mikroskopie.* Bd. VIII, 1891 y otras Revistas. En español poseemos no sólo acerca de los trabajos de Abbe, sino en todo lo referente á la óptica micrográfica, el libro fundamental de Castelarnau, titulado *Teoría general de la formación de la imagen en el microscopio,* publicado bajo los auspicios de la Junta de ampliación de estudios. Madrid, 1911.

Los espectros de difracción de una preparación con rayas (un micrómetro, por ejemplo, ó una diatómea), pueden observarse fácilmente en el microscopio, quitando el ocular y mirando en el interior del tubo. Suponiendo que las distancias separatorias de las estrías sean iguales, veremos en el centro del tubo el pincel luminoso principal dióptrico, y á los lados y en serie perpendicular á la dirección de las estrías, varios espectros de difracción. Cuanto más próximas y finas las rayas, tanto más separados se hallan los espectros (véase la fig. 7, B).

Los interesantes experimentos de Abbe se han ejecutado utilizando como preparación un micrómetro provisto de dos series de rayas: anchas en número de 71 por milímetro; finas en cantidad de 142 por milímetro. Examinando este retículo (fig. 7, B) sin ocular, preséntanse, en consonancia con lo expuesto, además de dos pinceles dióptricos incoloros y centrales, dos líneas de espectros de difracción; de las cuales, la una, formada por cuatro de éstos, corresponde á las líneas finas, y la otra, constituída por un número doble, proviene de las rayas anchas. Examinando el preparado con el ocular, descúbrense claramente las estrías (fig. 7, A).

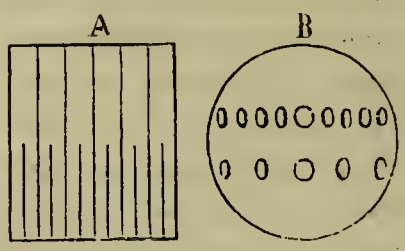

Fig. 7. — A, micrómetro objetivo con dos series de rayas; B, espectros de difracción que aparecen al examinar dicho micrómetro con un objetivo y sin ocular.

Esta primera observación atestigua ya que los espectros de difracción originados por rayas finas, puesto que se desvían mucho más del pincel central que los producidos por rayas anchas, exigen, si han de ser recogidos y aprovechados, objetivos de gran ángulo de abertura. Compréndese bien por qué los objetivos de poca abertura, cualquiera que sea su poder amplificante, son incapaces de mostrar las estrías y detalles demasiado próximos.

Los experimentos siguientes son altamente demostrativos de la doctrina de Abbe:

Primer experimento (fig. 8). — Colócase en la platina el retículo mencionado, y encima del objetivo un diafragma lineal,

con el que se logra eliminar los espéctros de difracción, dejando exclusivamente el pincel dióptrico. En estas condiciones, examinando con ocular, no hay imagen de rayos; el campo aparece uniformemente iluminado como si no hubiese preparación.

Segundo experimento.—Situando en el mismo paraje un diafragma de tres rendijas (fig. 9), de tal modo que sean admitidos á formar la imagen los mismos rayos de difracción de ambos retículos, el examen con ocular nos mostrará iguales las dos series de rayas, habiéndose duplicado las del retículo claro ó superior.

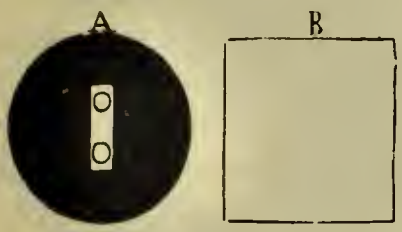

Figura 8.

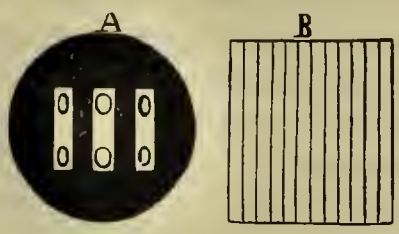

Figura 9.

Tercer experimento. — Si, á favor de otro diafragma (fig. 10) se excluyen los rayos de difracción más próximos al centro de ambos retículos, admitiendo exclusivamente los espectros más laterales, las rayas anchas quedan cuadruplicadas y duplicadas las estrechas.

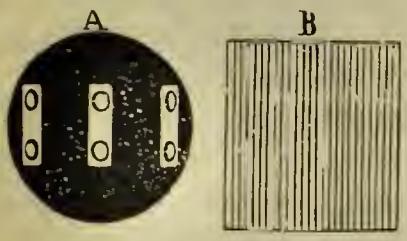

Figura 10.

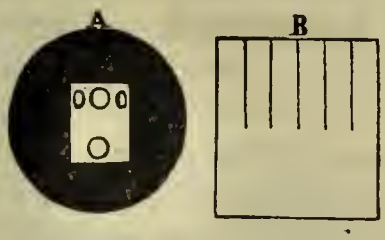

Figura 11.

Cuarto experimento. — Mediante un diafragma cuadrilongo, se prescinde de los espectros de difracción del retículo estrecho, se admiten los del ancho, y se conservan los pinceles centrales. El resultado será la desaparición de las rayas finas, y la permanencia de las anchas (fig. 11).

En suma: los experimentos clásicos de Abbe patentizan: 1.º, que las imágenes de finas rayas y detalles minúsculos no se de-

ben al pincel luminoso de proyección ó central, sino á los espectros originados en dichas estrías, mediante interferencias de los rayos incidentes que las atraviesan; 2.°, dado que, cuanto más apretadas están las rayas, más se desvían sus espectros del pincel central, no queda más remedio para lograr la colaboración de éstos en la imagen que el empleo de objetivos de grande abertura numérica; 3.°, que iguales objetos dan imágenes desiguales admitiendo diferentes espectros de difracción, y, al revés, que objetos distintos producen imágenes iguales, si son aceptados los mismos espectros; 4.°, que la imagen dióptrica dibujada por proyección de cada punto del objeto, forma solamente el fondo luminoso, el color y el contorno de las partes relativamente gruesas de la preparación; los detalles delicados de ésta, y particularmente las estrías y granulaciones, se deben á los espectros de difracción.

MICROSCOPIO COMPUESTO EN LA PRÁCTICA

El modelo de microscopio, construído por la mayor parte de los fabricantes con destino á los trabajos serios de histología, encierra una porción de disposiciones y mejoras que vamos brevemente á reseñar. Conviene, desde luego, que distingamos en el microscopio compuesto la *parte mecánica* y la *parte óptica*.

Parte mecánica. — Comprende el pie, la columna, la platina, la pinza y el tubo principal (fig. 12 y siguientes).

El *pie* es el bloque de metal que sirve de sustentáculo al aparato; su forma suele ser de herradura con la abertura hacia adelante; su peso y solidez son notables, á fin de dar estabilidad al conjunto y consentir, sin pérdida del equilibrio, la inclinación horizontal del tubo.

La *columna* es, ora simple, ora doble, y en los modelos regulares puede doblarse en ángulo recto, á beneficio de una charnela. Por abajo, fíjase la columna en la porción posterior del pie, y por arriba soporta el tubo del tornillo micrométrico y la platina.

La *platina* es una ménsula horizontal de vidrio ó de metal, donde, á beneficio de unas pinzas, se fijan las preparaciones microscópicas. En el centro existe una perforación donde asoma

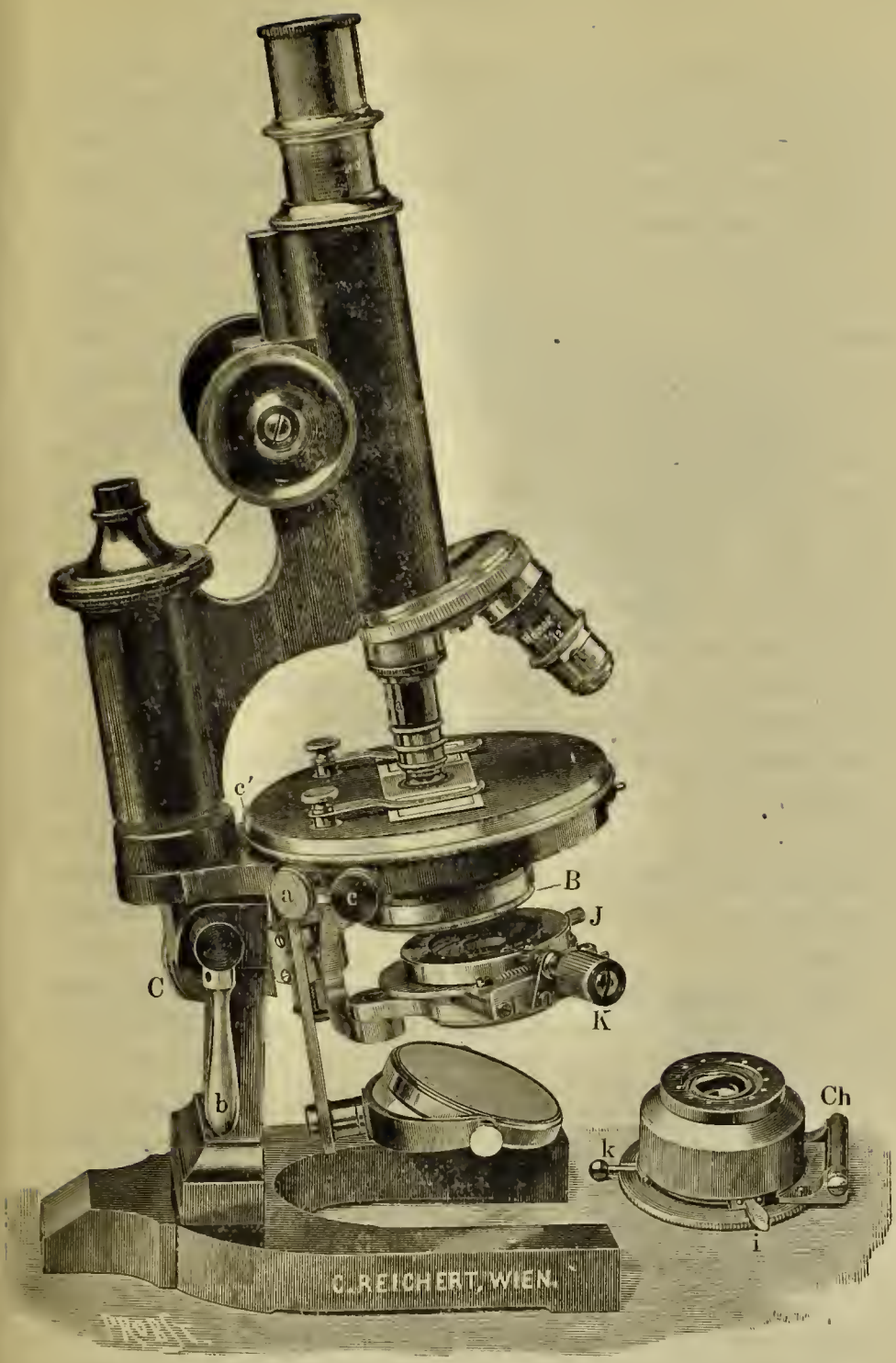

Fig. 12. — Microscopio compuesto, de Reichert; modelo de lujo con cremallera para el descenso rápido del tubo; aparato iluminador Abbe, platina giratoria, diafragma iris, revólver porta-objetivo, etc.

el concentrador de la luz ó el diafragma cilíndrico, y sirve para dar paso á los rayos emanados del espejo. En los modelos de lujo, la platina suele ser giratoria y aun movible en dos sentidos perpendiculares, lo que permite un recorrido casi automático de la preparación (figs. 22 y 25).

La *columna* es un cilindro que arranca de la parte posterior de la platina y soporta la pinza ó tubo corto provisto de hendiduras donde se desliza el tubo principal del microscopio. En dicha columna se hallan los mecanismos que permiten el descenso rápido ó lento del tubo y, por consiguiente, el del objetivo. El *movimiento rápido* se verifica, en los modelos económicos, por simple deslizamiento del tubo en su pinza (fig. 24); pero, en los más cómodos, se realiza á beneficio de un piñón y cremallera (figs. 12 y 18). El *movimiento lento,* indispensable al minucioso enfocamiento de las preparaciones, se efectúa haciendo girar el botón que corona la columna, y el cual actúa sobre un tornillo micrométrico (fig. 12). En los modelos más modernos, este tambor ó botón reside lateralmente (fig. 22).

El *tubo,* órgano muy principal del microscopio, es de latón ennegrecido interiormente, y consta de dos cilindros enchufados, de los cuales el interior puede sacarse para alargar la extensión total del tubo. En el extremo superior entra, por simple deslizamiento, el ocular; en el inferior se monta, mediante rosca, el objetivo.

Parte óptica del microscopio compuesto. — La forman el espejo, los diafragmas, el aparato concentrador de la luz, el objetivo y el ocular.

Espejo.—Es generalmente doble, poseyendo en una cara un vidrio azogado plano, y en la otra otro cóncavo. Por virtud de su modo de articulación á la columna, el espejo puede moverse en todas direcciones, lo que permite iluminar la preparación ya directa, ya oblicuamente (fig. 12).

Diafragmas.—Hace algunos años, casi todos los modelos de microscopio ofrecían debajo de la platina y en su centro un tubo movible, donde se colocaban los diafragmas destinados á reglar la intensidad de la iluminación. La forma de los diafragmas solía ser cilíndrica, terminando en un disco taladrado (fig. 14).

En otros modelos, los diafragmas estaban representados por un disco giratorio horizontal, con agujeros de diverso diámetro, correspondientes al centro de la platina.

Actualmente, los diafragmas forman parte del aparato iluminador, haciéndose uso preferente del llamado *diafragma iris,*

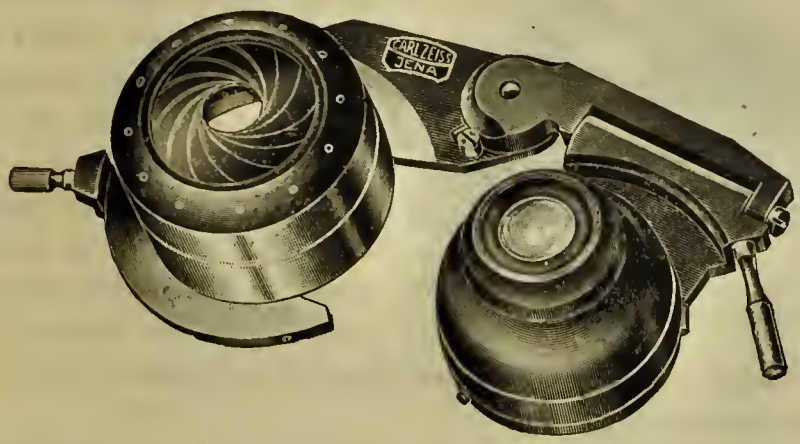

Fig. 13. — Condensador movible fuera de eje con diafragma iris.

órgano que, merced al juego de una manecilla, permite angostar á voluntad el pincel luminoso destinado á la preparación (fig. 13).

Aparato concentrador de la luz (figs. 15 y 16). — En las observaciones á grandes aumentos, no suele bastar la luz suministrada por el espejo cóncavo, siendo indispensable la aplicación de sistemas de lentes que concentren poderosamente los rayos emanados del foco luminoso.

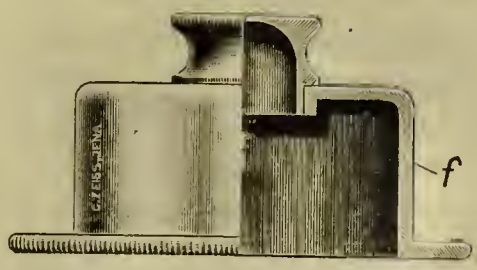

Fig. 14. — Diafragma cilindro propio de los pequeños modelos.

Entre los concentradores conocidos, el más usado actualmente es el del profesor Abbe (fig. 16). Consiste este aparato substancialmente en dos ó tres lentes de gran abertura sujetas en una misma montura, y las que, á la manera de un objetivo fotográfico de foco muy corto, proyectan en el centro de la platina, y precisamente en el espesor de la preparación, una

imagen real muy brillante de la luz, usada para la iluminación (la llama de una lámpara, por ejemplo). Con diafragmas moderadamente anchos, la claridad es tan grande, que permite trabajar cómodamente, aun con los objetivos de foco más corto y de mayor potencia amplificante. Por debajo de las lentes, dicho concentrador lleva un anillo giratorio donde se instala el diafragma del tipo *iris* (fig. 13); un piñón y una cremallera permiten ladear este diafragma, á fin de obtener la iluminación oblicua. Finalmente, en la parte inferior del aparato hay una prolongación prismática, donde va fijo el espejo reflector.

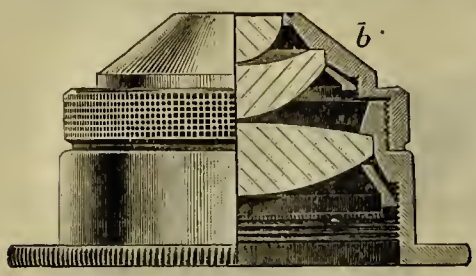

Fig. 15. — Condensador luminoso ordinario peculiar de los medianos modelos de microscopio.

Pueden sacarse del concentrador Abbe efectos de iluminación muy varios y todos muy útiles en el estudio de las preparaciones. Así, por ejemplo: operando sin diafragma, la preparación aparece tan difusamente iluminada, que no revela sino las partes coloreadas (la cromatina de los núcleos, los microbios teñidos con anilinas, etc.); pero si la preparación se examina con angosta abertura, no sólo mengua la luz, sino que se perciben rigurosamente los contornos de las partes poco ó nada teñidas, ó cuyo índice de refracción apenas discrepa del medio conservador (contornos celulares, rayas de diatómeas, dobles contornos de tubitos, pestañas vibrátiles, etc.).

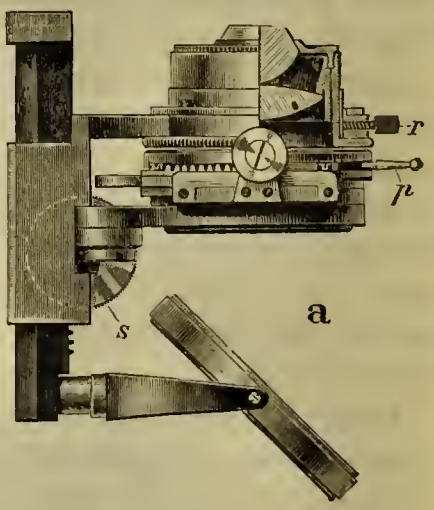

Fig. 16. — Corte del concentrador Abbe.

El concentrador de Abbe, ordinariamente usado, carece de la corrección cromática; pero existe un modelo, indispensable en microfotografía, perfectamente acromatizado. Los constructo-

res ingleses Powel y Lealand, venden también excelentes concentradores acromáticos.

La abertura del concentrador ordinario permite usar los objetivos apocromáticos fuertes (1'30 y 1'40 de Zeiss); no obstante, el objetivo 1'63 de Zeiss, exige un concentrador especial, cuya abertura guarda correspondencia con la poderosa del objetivo.

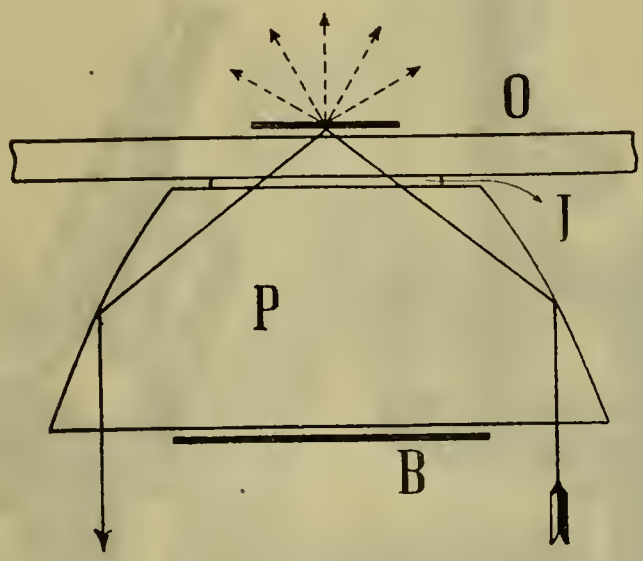

Fig. 17.—Condensador parabólico de Zeiss. Marcha de los rayos luminosos en la iluminación de fondo obscuro. — B, disco opaco; P, condensador; I, capa de aire que debe descartarse mediante el aceite de cedro; O, porta-objetos con su laminilla.

Para los pequeños modelos de microscopio, la casa Zeiss construye también un concentrador más sencillo y de menor ángulo, provisto de diafragma iris, que se monta en lugar del diafragma cilíndrico.

Concentradores de luz para fondo obscuro. — En estos últimos años se han imaginado, para la percepción de microbios vivos y de particularidades estructurales en las células no fijadas ni teñidas, ciertos aparatos concentradores dispuestos de tal suerte, que el poderoso haz luminoso recolectado por el espejo, después de cruzar las lentes del aparato y de iluminar la preparación, sufra en la superficie de ésta (cara superior del cubre-objetos) una reflexión total; de esta suerte, los rayos incidentes

retornan al espejo, y los objetos heridos por ellos destacan como puntos blancos sobre fondo negro.

Se conocen hoy varios concentradores de esta especie, construídos por Richert, Leitz, etc. Uno de los mejores es el fabricado por Zeiss é imaginado por Siedentopf, y que consiste en un

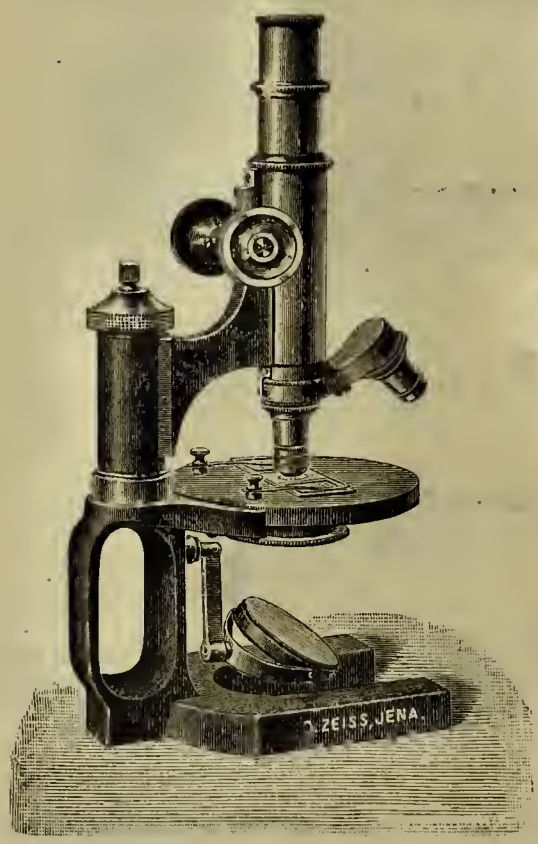

Fig. 18. — Modelo V. A. de Zeiss con revólver porta-objetivo y un ojal en el pie para cogerlo.

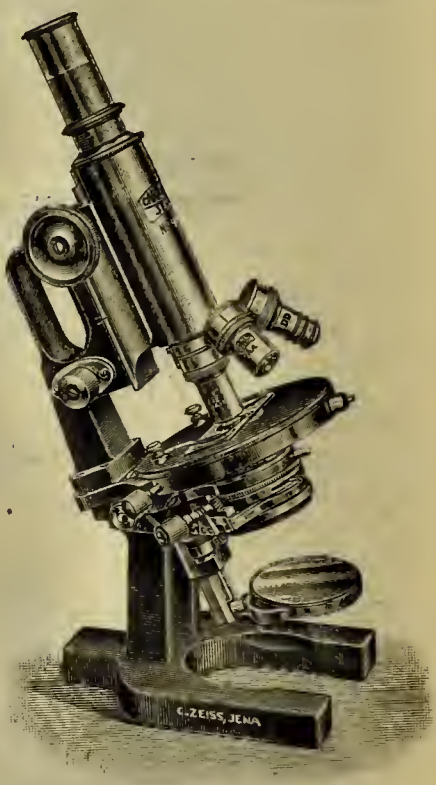

Fig. 19. — Modelo mediano de microscopio compuesto, con cremallera, revólver porta-objetivo y condensador económico (*Stativ.* VI a).

paraboloide macizo de cristal, con el cual se reemplazan las lentes del concentrador ordinario (fig. 17). La curva supero-lateral del paraboloide está calculada de tal suerte, que todos los rayos incidentes sufren en ella la reflexión total, convergiendo en el preparado, en cuya cara superior retroceden (al llegar al aire) en virtud de otra reflexión total, no sin haber iluminado el objeto, que se hace perceptible merced á los rayos de luz difusa

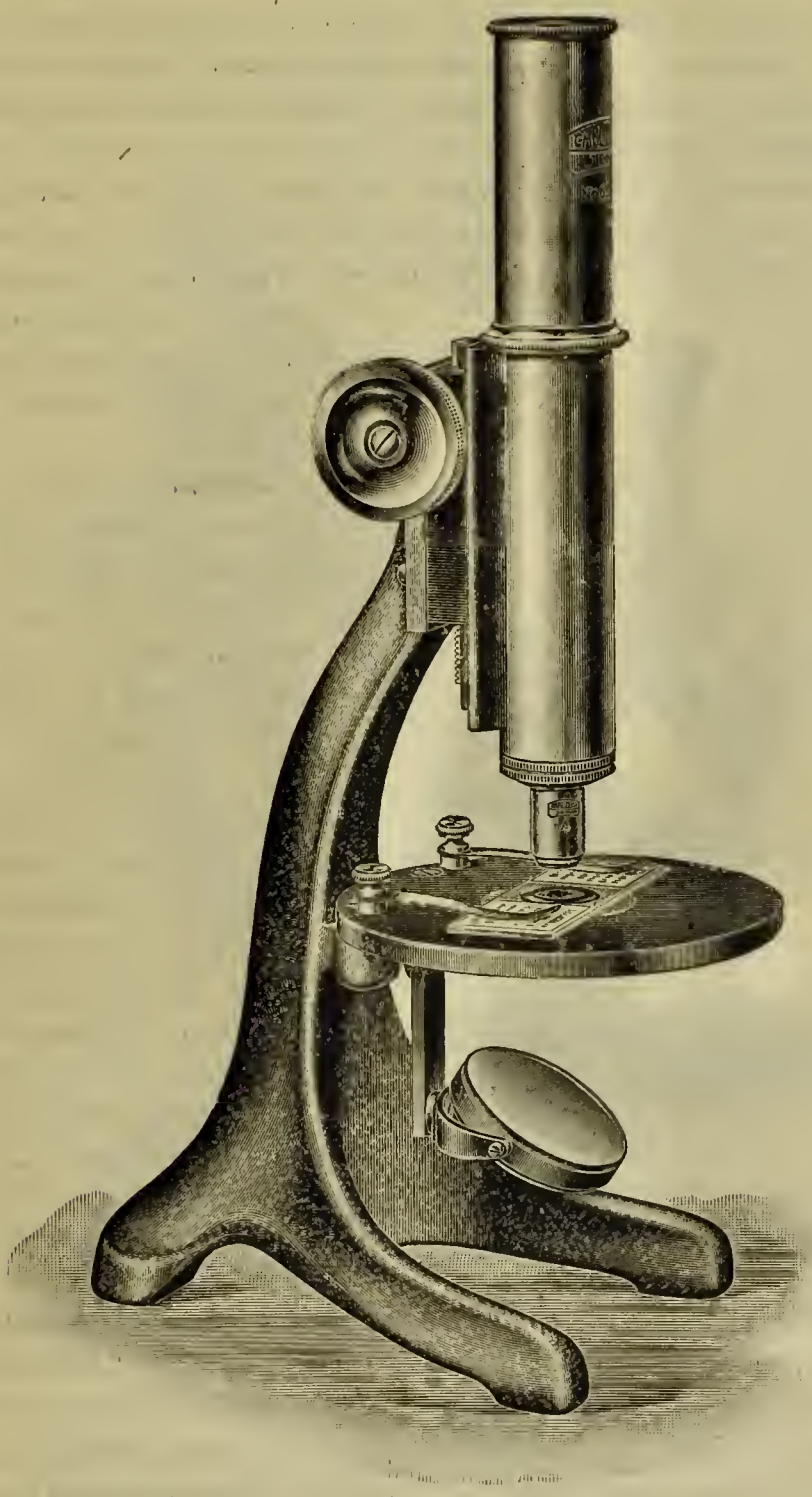

Fig. 20. — Modelo de microscopio llamado del estudiante

que emite. Naturalmente, el examen de la preparación se efectúa solamente con objetivos á seco. Anejo á estos aparatos va, por lo común, una lámpara eléctrica especial de gran potencia.

Merced á los concentradores de fondo negro, se hacen perceptibles las figuras kariokinéticas de las células vivas, diversas granulaciones difíciles de percibir en los preparados comunes, y, en fin, microbios inaccesibles á nuestra retina con los concentradores ordinarios.

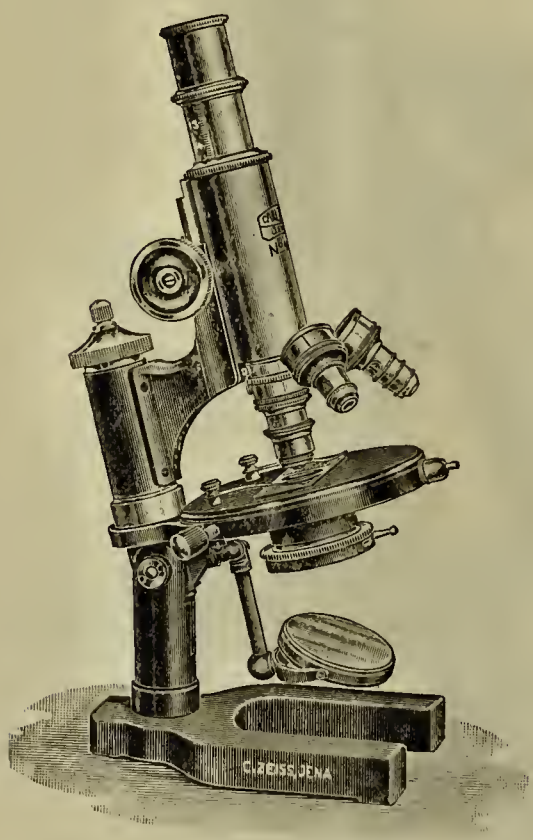

Fig. 21. — Modelo de lujo con tornillo micrométrico lateral, platina giratoria y revólver porta-objetivo.

Objetivos.— Son los objetivos los órganos más importantes del microscopio; la bondad de éste depende enteramente de la buena construcción de aquéllos.

En los modelos económicos, el objetivo se monta atornillado al cabo inferior del tubo del microscopio; pero es más cómodo montarlo en el *revólver porta-objetivo* (fig. 21), pieza que mediante un movimiento giratorio, permite utilizar sucesivamente varios objetivos de diversa amplificación (fig. 23).

Antiguamente constaban los objetivos de una sola lente, cuya distancia focal variaba según los aumentos que se querían obtener. Pero desde Carlos Chevalier (1833), los objetivos se construyen de varias lentes, con la doble mira de corregir la aberración cromática y de aumentar la distancia frontal; alcánzase así también la ventaja de hacer más fácil la construcción del objetivo, pues se reparte en varias lentes de foco

relativamente largo, y, por tanto, fáciles de tallar, la corvadura exagerada de la lente única de foco cortísimo.

En los objetivos que hoy se usan, las diversas lentes constituyen un sistema inseparable, mantenido en una montura de latón

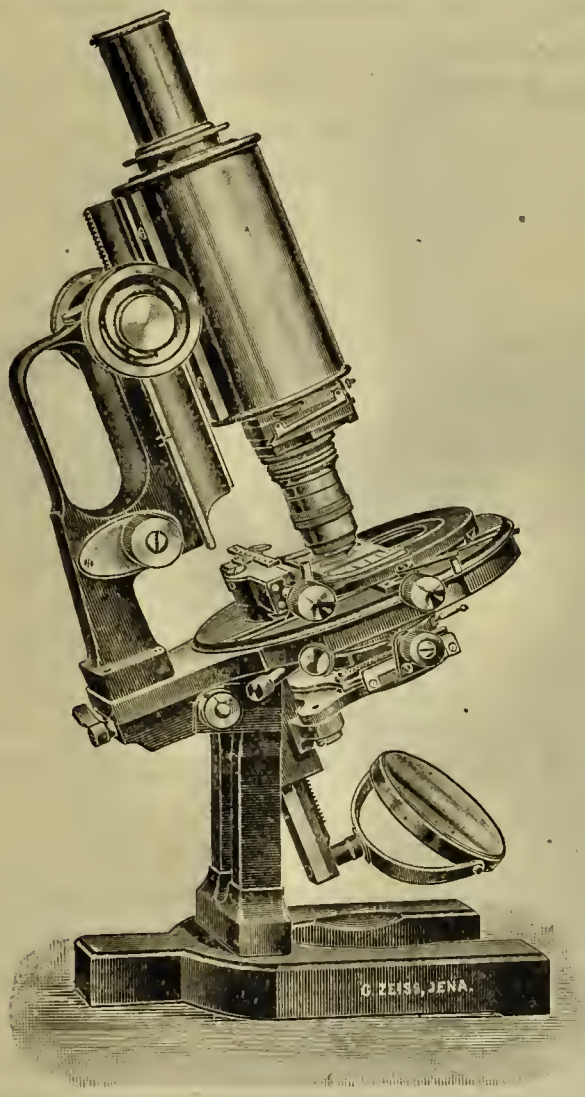

Fig. 22. — Otro modelo semejante al de la figura 21, pero provisto de platina graduada con movimientos en dos direcciones.

de forma cónica, atornillable en el cabo inferior del tubo del microscopio. Cada objetivo contiene ordinariamente tres lentes: la *inferior* ó *frontal* de foco muy corto; la *media* de foco más largo, y la *superior* todavía menos convergente. Casi siempre

la lente media está acromatizada y la inferior se corrige con la superior, pues en ésta domina el *flint* (materia muy dispersiva) y en aquélla el *crown* (cristal poco dispersivo). Esta combinación de tres lentes no reza con los objetivos de gran potencia, ni con los más débiles, pues aquéllos constan de cuatro lentes (fig. 28) y éstos de una sola.

Variedades de objetivos. — Atendiendo á las condiciones de su empleo y al mecanismo de su construcción, los objetivos se clasifican en: 1.°, objetivos á seco ú ordinarios; 2.°, objetivos de corrección; 3.°, objetivos de inmersión, y 4.°, objetivos apocromáticos.

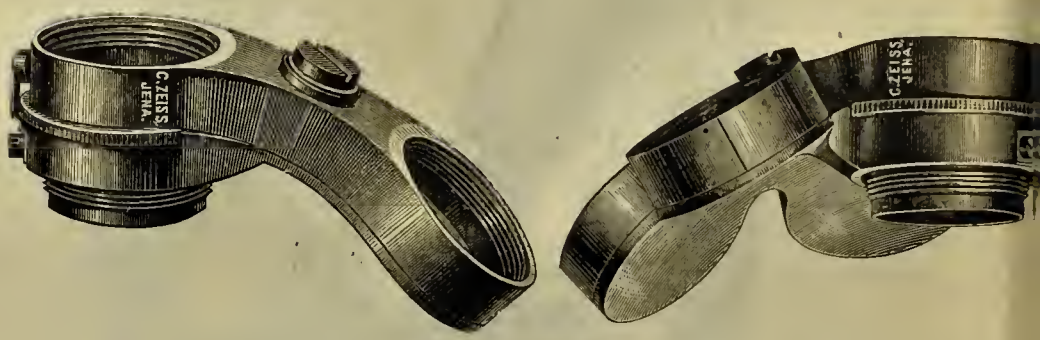

Fig. 23. — Tipos de revólver porta-objetivos.

Objetivos ordinarios ó á seco.—Son los que, cuando funcionan, tienen la lente inferior ó frontal separada de la preparación por una capa de aire.

Para aumentos medianos son tales objetivos excelentes. Los hay de varios números, según su distancia focal y poder amplificante. Distínguense entre sí, ya por letras (Zeiss), ya por números (Nachet, Verick). Actualmente, va adquiriendo boga una nomenclatura más racional, porque está fundada en la distancia focal y abertura numérica. Así Zeiss, designa uno de sus apocromáticos: 1'30, 2 *milímetros,* lo que quiere decir que el objetivo en cuestión posee 1'30 de abertura numérica y 2 milímetros de distancia focal; indicaciones que permiten juzgar del poder resolutivo y del aumento.

Objetivos de corrección.—Amici y Ross, independientemente uno de otro, descubrieron que la imagen suministrada por los objetivos á seco es buena solamente cuando la preparación está

cubierta por una laminilla de cierto espesor; en cuanto este espesor varía, las imágenes aparecen más ó menos confusas.

Semejante defecto dimana, como puede verse en la figura 29, de que los rayos incidentes más oblícuos (A *a)* de un objeto O, situado en el espesor de un preparado, se desvían mucho más á su llegada al aire, que aquellos cuya dirección es menos inclinada *(e* E). La desviación de los rayos oblícuos es tanto mayor, cuanto más espeso es el cubre-objeto. El ojo del observador, viendo el objeto en la prolongación de los rayos emergentes, no lo referirá á un solo plano, sino á varios, perturbándose al superponerse las diferentes imágenes del punto examinado.

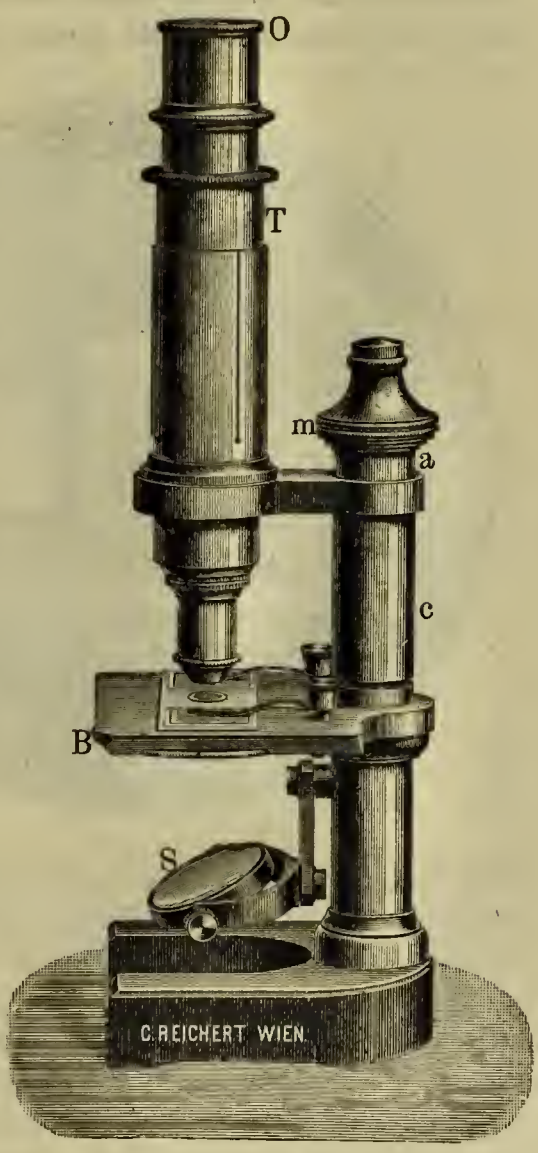

Fig. 24. — Modelo llamado de estudiante, construído por Reichert.

Se evita este defecto de dos modos: ó usando solamente cubre-objetos para cuyo espesor esté corregido el objetivo, ó utilizando ciertos objetivos *llamados de corrección*, en los cuales las lentes superiores pueden, á beneficio de un anillo y una tuerca, separarse en más ó menos cantidad de la lente frontal. Cuanto más espeso es el cubre-objeto, más deben aproximarse á la frontal las lentes superiores; de este modo los rayos periféricos, que son los más

desviados, se refractarán más que los otros y la imagen de todos se dibujará en un mismo punto.

Objetivos de inmersión.—Así se designan los objetivos entre cuya lente frontal y la preparación se interpone un líquido, que en los *objetivos de inmersión ordinarios,* es el agua destilada, pero que en los llamados de *inmersión homogénea,* es una subs-

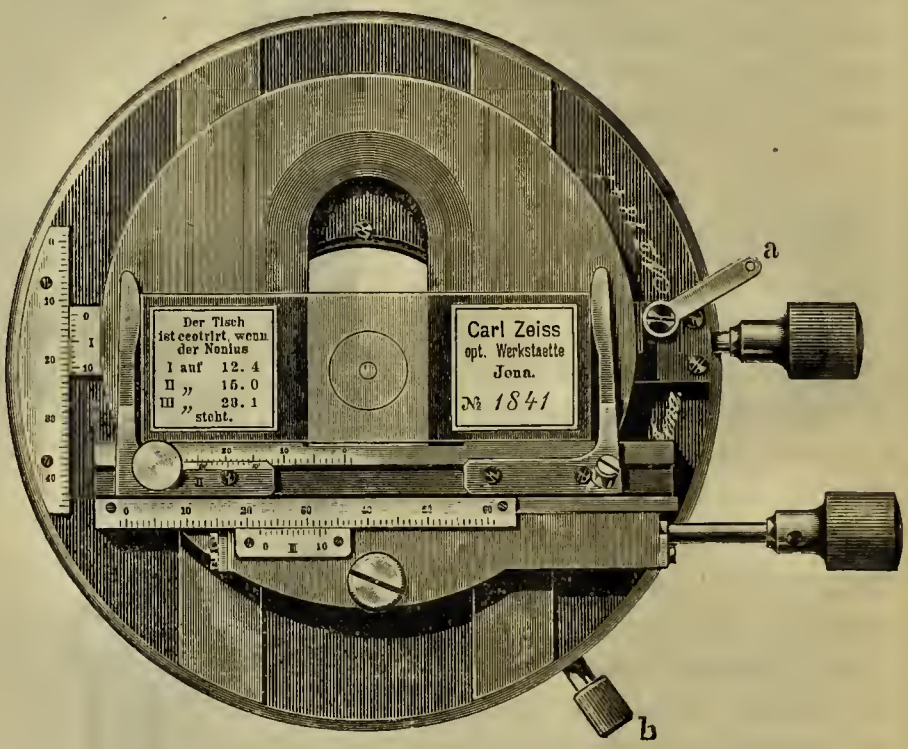

Fig. 25. — Gran platina movible. El movimiento de la preparación en dos sentidos perpendiculares se logra á favor de cremalleras. Dos *nonius,* uno lateral y otro anterior, miden el desplazamiento del preparado y pueden servir para encontrar el punto interesante de éste, cuando después de un primer examen, se toma nota de la posición del porta-objetos.

tancia de índice de refracción análogo al del crown (1'515), ó sea el aceite de cedro, más ó menos espesado por evaporación.

Como ya demostró Amici hace muchos años, los objetivos de inmersión son, á igualdad de aumento, mucho más luminosos que los ordinarios, porque el líquido interpuesto modera la desviación que los rayos periféricos ó más oblícuos experimentan al emerger de la preparación, permitiendo que sean recogidos por la lente frontal. Poseen además estos objetivos una distan-

cia frontal mayor que los objetivos á seco, lo que permite enfocar con mayor latitud y desahogo.

Las figuras 30 y 31 muestran claramente las ventajas de la inmersión. Los rayos incidentes (fig. 30), llegados del punto *a* de la preparación, al abordar la capa de aire se desvían tan fuertemente, que no pueden ser recogidos por el objetivo; los que alcancen el aire bajo un ángulo superior al ángulo límite del cristal al aire, sufrirán la reflexión total; mas si se interpone (figura 31) un líquido de igual índice que el crown, la desviación desaparece, porque la preparación, la lente frontal y el espacio separatorio, quedan convertidos en un medio casi del todo homogéneo.

Figs. 26 y 27. — Aspecto exterior de los objetivos comunes de Zeiss.

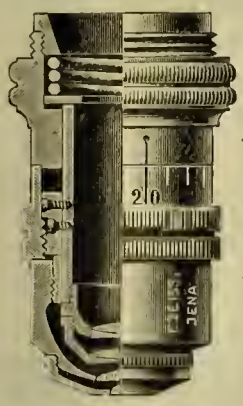

Fig. 28. — Corte vertical de un objetivo apocromático de corrección.

Objetivos apocromáticos. — Los objetivos ordinarios, ya funcionen en seco, ya á inmersión, están acromatizados solamente para dos rayos del espectro: el rojo y el azul; lo que se logra, como es sabido, combinando cristales de *crown* (cristal poco dispersivo) con lentes de *flint* (muy dispersivo).

Empero, los cálculos del profesor Abbe, de Jena, en colaboración con las casas Schott y Zeiss, le condujeron á emplear vidrios más ventajosos que los antiguos *crown* y *flint* para la corrección cromática de las lentes. Los objetivos construídos con estos cristales han recibido la denominación de *apocromáticos;* en ellos coinciden en un punto del eje tres rayos del espectro, por donde résulta casi absolutamente eliminado el

espectro llamado secundario de los objetivos comunes. La imagen es más pura y luminosa, y los colores de los objetos se muestran con gran fidelidad.

Otra ventaja consiste en que la aberración de esfericidad, que en los objetivos ordinarios se corrige para un solo color (intermedio del amarillo y verde), en los apocromáticos está corregida para dos ondulaciones distintas del espectro.

Como más adelante tendremos ocasión de notar, los objetivos apocromáticos son excelentes para la microfotografía, ya que, merced á la coincidencia focal de tres colores (rojo, verde y violado), la imagen actínica ó fotográfica corresponde al mismo plano que la luminosa.

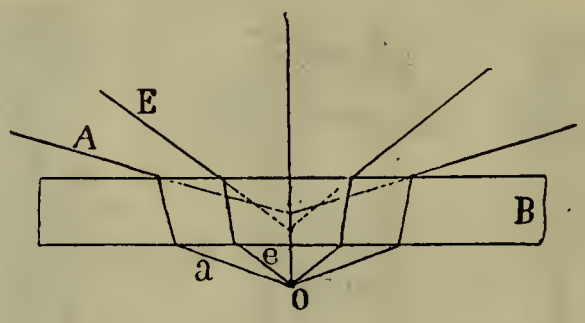

Fig. 29.—Influencia del espesor de la lámina cubre-objetos (B) en la marcha de los rayos luminosos emanados de un punto O de la preparación.

Objetivos de gran ángulo. —Los experimentos de Abbe han puesto fuera de duda que el poder resolutivo del microscopio es función del ángulo de abertura del objetivo (véase más adelante el concepto de abertura). De aquí la necesidad de construir objetivos en donde todos los factores concurran al aprovechamiento de los rayos más desviados emergidos de la preparación, entre los cuales figuran los espectros de difracción producidos por las finas rayas y demás pormenores del objetivo examinado.

Bajo este aspecto, puede considerarse el objetivo 1'63 de abertura numérica construído por Zeiss, con arreglo á los cálculos de Abbe, como el último esfuerzo de la óptica moderna. Es de inmersión, pero no en el aceite de cedro, sino en un líquido de índice más alto aún (1'65), el *monobromuro de naftalind.* La lente frontal es de *flint,* cuyo índice llega á 1'72. Su poder resol-

vente es notable y superior á todo lo que hasta hoy habíase logrado, como atestiguan los experimentos microfotográficos de van Heurck. Mas, desgraciadamente (y esto limita mucho su

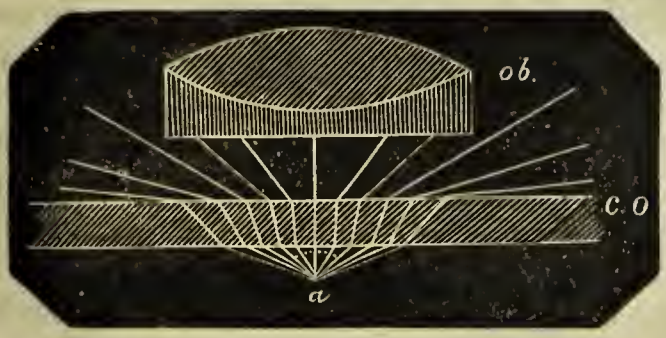

Fig. 30. — Marcha de los rayos luminosos emanados de un punto en los objetivos á seco : *o b,* lente formada del objetivo; *c o,* cubre-objeto.

empleo, el conveniente aprovechamiento de su total ángulo de abertura numérica, exige el empleo de un concentrador luminoso especial, cuya lente superior es de *flint* muy refringente, así como el uso de porta-objetos y cubre-objetos tallados en un

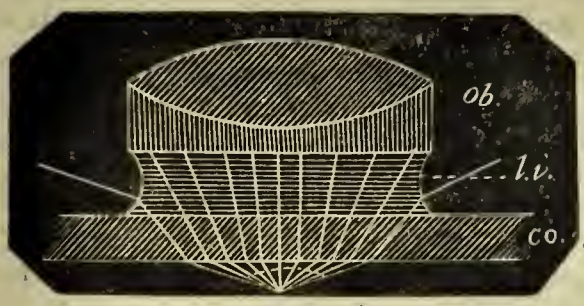

Fig. 31.—Marcha de los rayos emanados de la preparación en un objetivo de inmersión homogénea : *o b,* objetivo; *c o,* cubre-objeto; *l i,* líquido de inmersión. (Tomadas de Ellenberger).

flint de 1'72 de índice. Además, con él no pueden examinarse las preparaciones ordinarias, siendo preciso usar, como vehículo conservador, el mismo monobromuro de naftalina. Por todas estas limitaciones, este objetivo se utiliza hoy casi exclusivamente en el estudio de las diatómeas.

DIVERSOS TIPOS DE MICROSCOPIOS FABRICADOS PARA FINES ESPECIALES

Aparatos de visión ultramicroscópica. — Los aparatos de observación descritos hasta aquí, son los particularmente empleados en los estudios histológicos y bacteriológicos. Pero existen otros modelos de microscopios aplicables á casos especiales. Uno de los más interesantes es el *ultramicroscopio*. Este último tiene por objeto hacer perceptibles las partículas, cuyo diámetro es tan pequeño, que no pueden dar imágenes apreciables con las lentes de mayor aumento. El principio en que se basa el ultramicroscopio, es aquel por el cual se hacen perceptibles á la vista y sobre fondo obscuro, las partículas de polvo heridas por el sol ó las estrellas del firmamento, no obstante carecer de diámetro aparente en la imagen retiniana.

Entre los varios modelos de ultramicroscopio imaginados en estos últimos años, citaremos el sencillo de Mouton, que realiza el fondo obscuro y la enérgica iluminación mediante un prisma de reflexión total; los iluminadores parabólicos de Reichert, Zeiss, etc. (fig. 17), fundados en el mismo principio, y el complicado aparato de Zsigmondy y Siedentopf, mediante el cual cabe explorar las partículas invisibles, tanto en preparados microscópicos como en tubos llenos de líquido. Puesto que tales aparatos tienen poco ó ningún uso en Histología, aplicándose especialmente á la bacteriología y á la químico-física (estudio de las substancias coloides, etc.), prescindiremos de hacer aquí su descripción detallada. Bastará consignar que todos ellos poseen un condensador óptico poderoso destinado á concentrar la luz del sol ó eléctrica sobre un punto microscópico de la preparación; un mecanismo de centraje de este pincel luminoso, y, en fin, una disposición del objetivo ó del concentrador, encaminada á producir un fondo obscuro, en el cual destaquen, mediante círculos irisados de difracción, los objetos invisibles enérgica y lateralmente iluminados.

Microscopio mineralógico. — Es un modelo provisto de platina giratoria y de goniómetros, al objeto de medir los ángulos de los cristales.

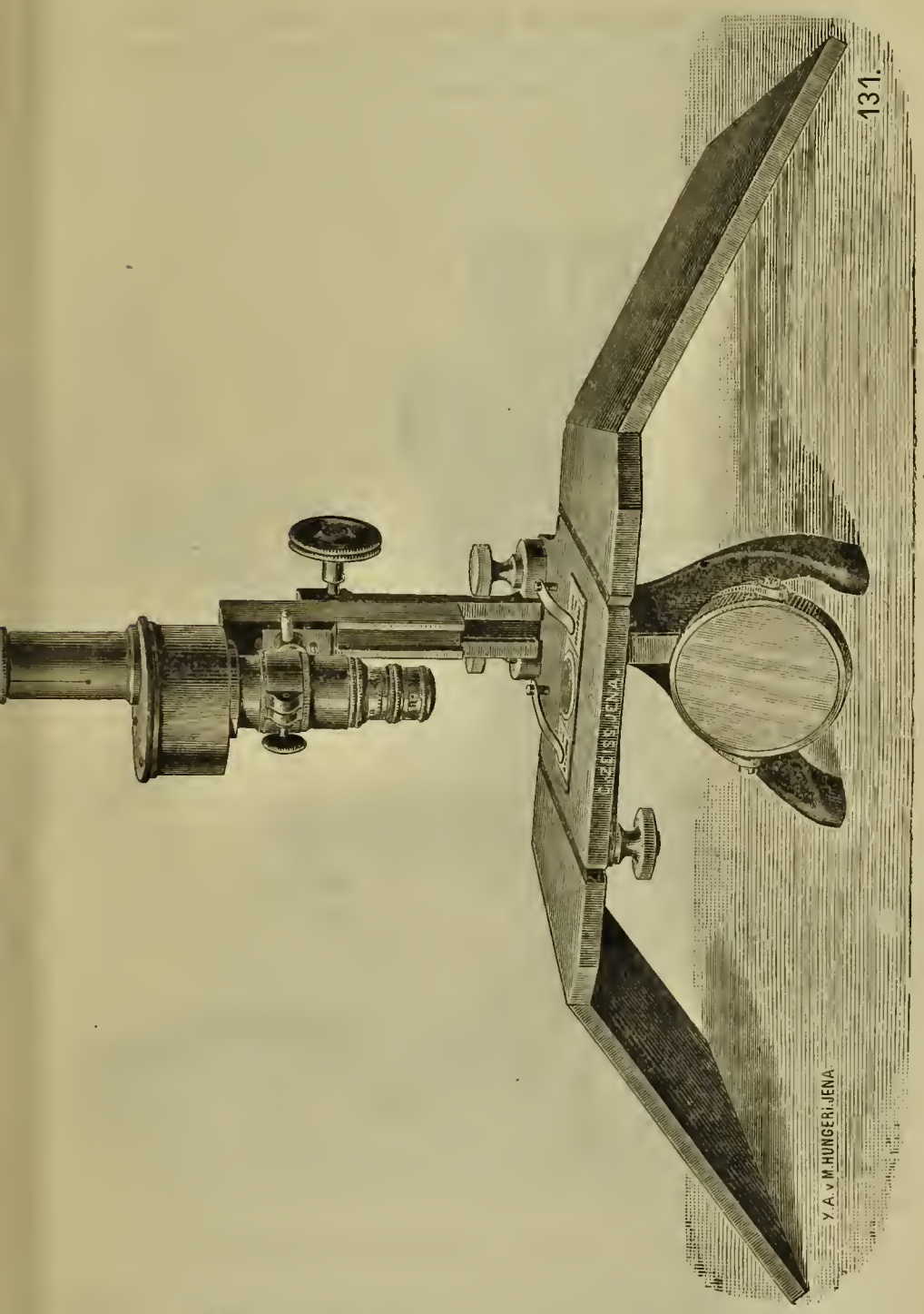

Fig. 32. — Modelo de microscopio rectificador de Zeiss dispuesto para la disección.

Microscopio monocular con prismas para la visión directa.—El modelo de la figura 32, construído por Zeiss, permite montar objetivos de larga distancia focal, excelentes para la disección. Merced á los prismas inversores, el movimiento de las agujas, visto al microscopio, es el natural, y las maniobras de disociación resultan fáciles.

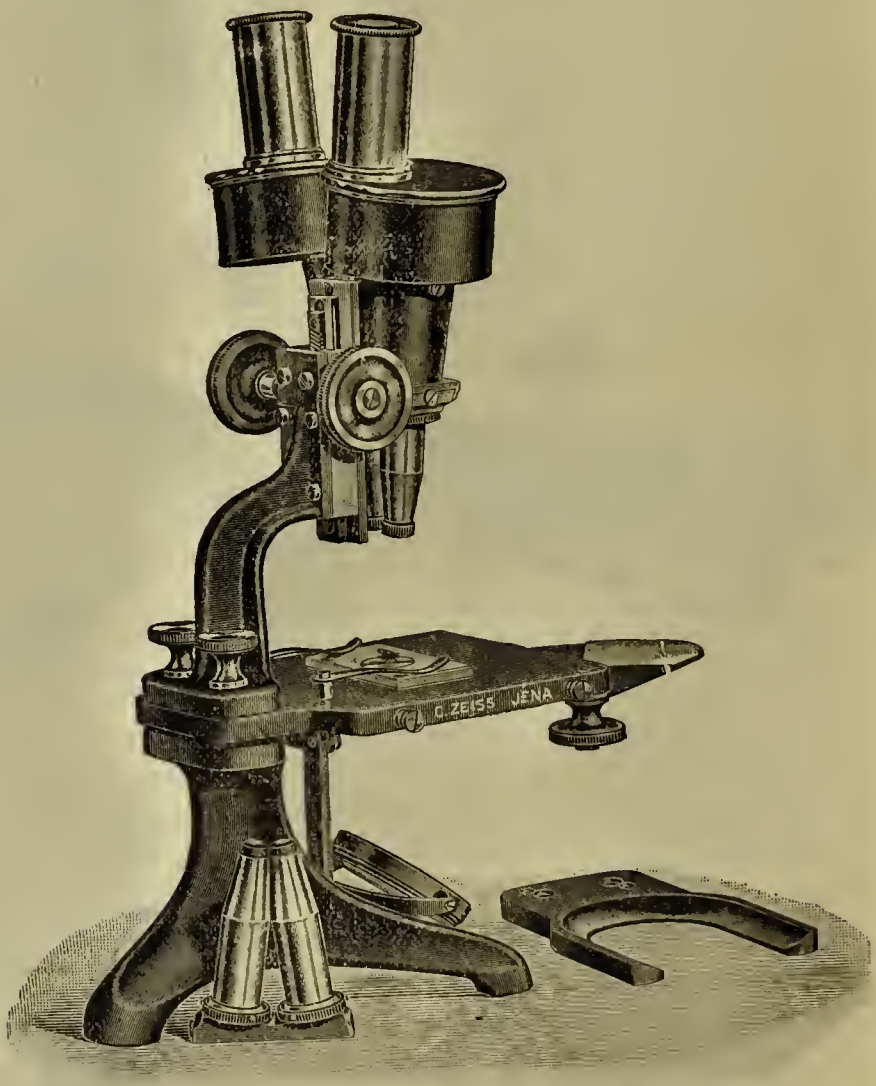

Fig. 33.—Microscopio binocular de Greenouch.

Microscopios binoculares de disección. Microscopio de Greenouch fabricado por Zeiss. — Posee el modelo de Greenouch (fig. 33) dos objetivos paralelos que permiten examinar dos perspectivas de

la preparación. Por debajo del ocular hay unos prismas rectificadores de Porro, merced á los cuales desaparece la inversión de la imagen. Este modelo es excelente para la disección y tiene adecuada y especial aplicación en zoología (examen de infusorios, diminutos insectos, arácnidos y demás animalículos de pequeño tamaño), en bacteriología (exploración de colonias) y en embriología (examen de pequeños embriones).

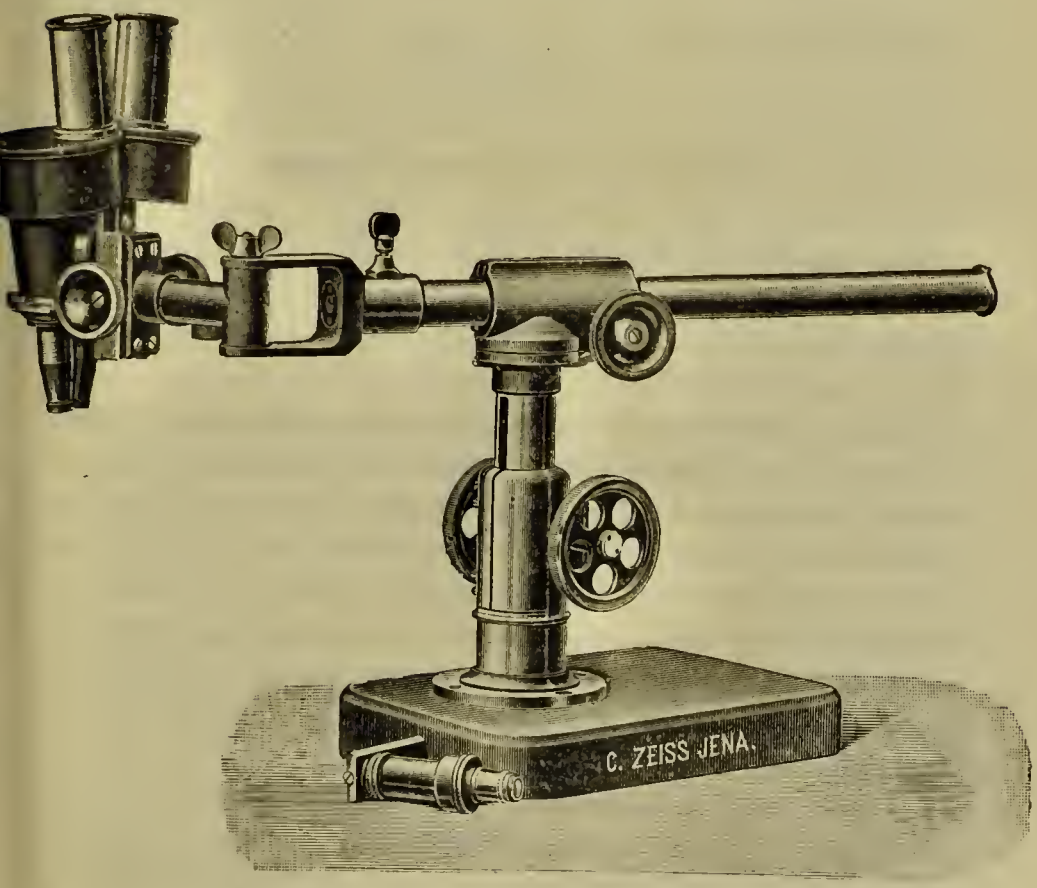

Fig. 34. — Microscopio binocular de disección de Braus y Brüner.

Un modelo semejante es el de Braus y Brüner, ya citado más atrás, que se distingue del precedente por carecer de platina y estar montado sobre una columna, cuya altura es modificable á favor de una cremallera (fig. 34). Este modelo es también, como el microscopio simple, excelente para la disección. Una pequeña cámara fotográfica permite recoger la doble imagen y obtener copias stereoscópicas.

CAPÍTULO III

CONTINUACIÓN DE LA PARTE ÓPTICA DEL MICROSCOPIO COMPUESTO

Propiedades de los objetivos. — Oculares.

Poder definidor del objetivo. — Es la cualidad que tienen los objetivos bien corregidos de las aberraciones cromática y de esfericidad, de traducir con limpieza y corrección el contorno de los objetos microscópicos.

Como es sabido, la *aberración de esfericidad* se explica por los físicos, considerando que toda lente está formada de una serie de prismas cuyas facetas poseen una inclinación tanto mayor cuanto más próximos se hallan á la periferia (1). Los rayos incidentes que atraviesen las regiones centrales de la lente (correspondientes á un prisma de caras poco inclinadas) se desviarán mucho menos que los que crucen las regiones periféricas, formándose, en consecuencia, y en distintos puntos del eje principal, una serie de focos del mismo objeto.

La aberración de esfericidad se corrige en los objetivos de dos modos : mediante diafragmas que eliminan los rayos marginales, ó combinando las lentes de tal suerte que la aberración de esfericidad de las unas se oponga á la de las otras.

La *aberración cromática* de las lentes es consecuencia de la propiedad que tienen los prismas de descomponer la luz blanca en sus siete colores elementales (la lente es un conjunto de prismas). La desigual refrangibilidad de los rayos del espectro (los violados se inclinan más y constituyen foco delante de los amarillos y rojos) da lugar á que las imágenes reales producidas por

(1) Véase la teoria del prisma en los *Tratados de óptica*.

las lentes aparezcan faltas de limpieza y con los contornos irisados.

La aberración cromática ó de refrangibilidad se corrige, como ya expusimos, reuniendo una lente convergente de *crown-glas* (silicato de potasa y cal) con otra divergente de *flint-glas* (silicato de plomo y potasa). El *crown* y el *flint* tienen un índice de refracción semejante, pero un poder dispersivo diferente. Se concibe, pues, que si emparejamos una lente convergente del cristal poco dispersivo *(crown)* con otra divergente (pero menos divergente que la otra convergente) del cristal muy dispersivo *(flint)*, la luz, descompuesta al pasar por la primera lente, se recompondrá en la segunda, sin que desaparezca del todo la convergencia.

Todo objetivo debe estar corregido, por lo menos, para dos rayos del espectro (rojo y verde claro); en los apocromáticos la coincidencia focal se extiende á tres colores.

Poder penetrante. — El poder de penetración ó profundidad focal es la propiedad que ciertos objetivos poseen de presentar perfectamente detallados, en una misma posición del enfoque, varios planos del espesor de una preparación.

La fuerza de penetración de un objetivo está en razón inversa de la abertura numérica, como ha demostrado Abbe, quien ha establecido la fórmula $\frac{1}{a}$, es decir, que la unidad de penetración se divide por la abertura numérica *(a)*. Así, cuando menos aumente y resuelva un objetivo, mayor será su profundidad focal.

Angulo de abertura. — Es uno de los factores más importantes de la construcción del objetivo, porque, como veremos luego, de la amplitud de este ángulo depende el poder de resolución.

El ángulo de abertura de un objetivo es el formado por los rayos extremos de un objeto que concurren á formar la imagen. Es preciso distinguir dos aberturas: la *geométrica* y la *numérica*.

La *geométrica* corresponde á la definición indicada, y puede fácilmente medirse por varios procedimientos, entre otros por el

siguiente, debido á Amici: Se comienza por quitar del microscopio el espejo, el concentrador y el ocular; se baja luego el objetivo hasta insinuar su lente frontal en el agujero de la platina; en seguida se colocan en la mesa, á los lados del pie del microscopio, dos papeles ó dos objetos brillantes que se irán separando hasta que sus imágenes comiencen á desaparecer dentro del objetivo. Ahora no hay sino tomar en un papel la distancia de separación de los objetos y la altura del objetivo, y trazar un ángulo que reuna dichas tres partes; este ángulo será la abertura geométrica. Poséenlo de modo exclusivo los objetivos á seco, y rara vez pasa de 80°.

La determinación del ángulo de abertura puede hacerse también por otros medios, tales como la tabla de Stephenson y el apertómetro de Abbe.

La *abertura numérica* es un concepto introducido modernamente en la óptica por Abbe; puede expresarse diciendo que es la capacidad que tiene un objetivo de utilizar, para la formación de la imagen, un número más ó menos considerable de los rayos luminosos que recibe.

Se recordará que, al tratar de los objetivos de inmersión, hemos dicho que en éstos entraban dos especies de rayos luminosos: los que serían recibidos del objetivo, aunque éste trabajase en seco, dada la amplitud de su ángulo de abertura, y aquellos más oblícuos que ingresan en la lente frontal merced á la influencia del líquido de inmersión. Estos dos factores luminosos entran en la abertura numérica en la relación que marca la fórmula siguiente, establecida por Abbe: $a = n \text{ sen } u$; es decir, la abertura numérica *(a)* es igual al índice de refracción del líquido de inmersión *(n)*, multiplicado por la mitad del seno del ángulo de abertura (sen u).

En general, y para un sistema cualquiera, la abertura geométrica estará en razón inversa de la distancia focal; así, de dos lentes de igual superficie, pero de las que una tenga la distancia focal de 4 y la otra de 2 milímetros, esta última será la de mayor abertura geométrica.

La abertura numérica crece, á igualdad de ángulo, con el índice de refracción del líquido; por tanto, de dos objetivos de foco

idéntico, el que funcione por inmersión en el aceite de cedro poseerá mayor abertura numérica que el que trabaje en el agua.

Poder de resolver.—Es la cualidad poseída por los objetivos de presentar finas rayas, contrastes ligeros de índice de refracción y detalles delicados de estructura de los objetos microscópicos.

No es lo mismo *aumentar que resolver*. El aumento depende de la brevedad focal del objetivo, y se determina por la fórmula más atrás citada; pero la resolución, si bien exige como una de sus condiciones la cortedad de la distancia focal, resulta muy principalmente de la cuantía de la abertura numérica. Se concibe bien, por tanto, que los esfuerzos de los ópticos tiendan á producir objetivos en los cuales, aprovechando, ora cristales de alto índice, ya el gran poder refringente de ciertos líquidos de inmersión, la abertura numérica alcance todo el posible desarrollo. Ya dijimos más atrás que en esta vía el último paso habíalo dado Zeiss con la construcción de su objetivo de abertura numérica 1'63, á inmersión en el monobromuro de naftalina. La aplicación de un líquido de inmersión de índice más poderoso, tal como el yoduro de metilo (1'743) ó los medios arsenicales, podría acrecer todavía la abertura numérica y, en consecuencia, el poder resolutivo del microscopio. La fórmula siguiente debida á Abbe expresa la relación entre el poder resolvente (R), la abertura numérica *(n* sen *u)* y la longitud de onda: $R = \frac{n \operatorname{sen} u}{\lambda}$.

El poder resolvente de un objetivo aumenta en la luz monocromática, y particularmente en la representada por las ondulaciones más breves del espectro (azul, violado, ultraviolado).

El valor del detalle rendido por un objetivo dado puede hallarse por la fórmula siguiente de Abbe, derivada de la anterior:

$\delta = \frac{\lambda}{2\alpha}$, en la cual δ expresa el detalle mínimo á resolver ó la menor distancia visible entre dos rayas, δ; la longitud de onda, y 2α el doble de la abertura numérica (1).

(1) Esto se entiende para la iluminación oblicua; en la iluminación central la fórmula es: $\delta = \frac{\lambda}{\alpha}$.

Así, para los rayos violados cuya longitud de onda es de 0'4861 μ, δ será igual á $\frac{0'5269\ \mu}{2\ \alpha}$, mientras que para los rayos verdes (raya E), δ será igual á $\frac{0'4861\ \mu}{2\ \alpha}$.

Se ve, pues, que δ, ó el más pequeño detalle perceptible (1), será más diminuto iluminando la preparación con la luz azul ó violada, que con la amarilla ó amarillo-verdosa (luz que domina en la blanca).

A favor de la fórmula citada podemos averiguar el número de espacios ó de fracciones correspondientes al milímetro que cabría resolver con un objetivo de abertura numérica conocida y con una luz de longitud de onda determinada. Supongamos que utilizamos la luz violada (longitud de onda 0'4000 μ), y el objetivo, 1'40 abertura numérica, y que en lugar de δ, con arreglo á lo indicado, ponemos el milímetro en fracciones de diezmilésimas. Tendremos 10.000, diez mil divididas por $\frac{0'4000\ \mu}{2'80}$, lo que nos dará el número de rayas que dicho objetivo resolvería en la extensión del milímetro.

La fórmula Abbe marca la dirección de los posibles progresos en la capacidad resolvente del microscopio. Si δ, ó el detalle á resolver es igual á $\frac{\lambda}{2\ \alpha}$, está claro, como ha dicho Czapski (2), que no hay sino dos caminos para disminuir la dimensión de δ: ó aumentar el divisor 2 α (abertura numérica) ó disminuir en lo posible el dividendo λ, utilizando las ondas más breves del espectro (onda violada). La abertura numérica se compone de dos factores: el ángulo de abertura y el índice de refracción del líquido *($a = n$* sen *u)*; ahora bien, el ángulo de abertura ha llegado á su límite práctico en los objetivos apocromáticos poderosos, y el progreso se ha de realizar descubriendo substancias de un índice de refracción más elevado que las conocidas.

(1) Al hablar del *menor detalle perceptible*, se alude á una imagen retiniana de dimensiones tales que, á la distancia de la visión distinta (25 centímetros), sus contornos abarquen aproximadamente un ángulo de tres minutos é impresionen, por lo menos, dos elementos visuales ó conos sensibles.

(2) *S. Czapski:* Die voraussichtlichen Grenzen der Leistungsfahigkeit des Mikroskops. *Zeitschr. f. wissenschafl. Mikroskopie,* etc., Bd. VIII, 1891.

En suma, los avances en la potencia de resolución del objetivo podrán lograrse de dos modos: 1.°, usando líquidos de inmersión de índice elevado; 2.°, trabajando con luz ultraviolada. Ambas condiciones exigen que los constructores inventen objetivos *ad hoc*, corregidos esférica y cromáticamente para las ondulaciones más breves del espectro. Luego veremos que, inspirándose en estos principios, Kohler ha ideado lentes monocromáticas en cuarto, que trabajan solamente con la luz ultraviolada invisible á nuestra retina, pero perceptible para la placa fotográfica.

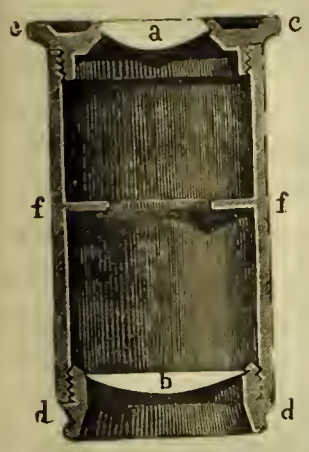

Fig. 35. – Corte vertical del ocular.—*a*, ocular propiamente dicho; *b*, lente del campo; *f*, diafragma.

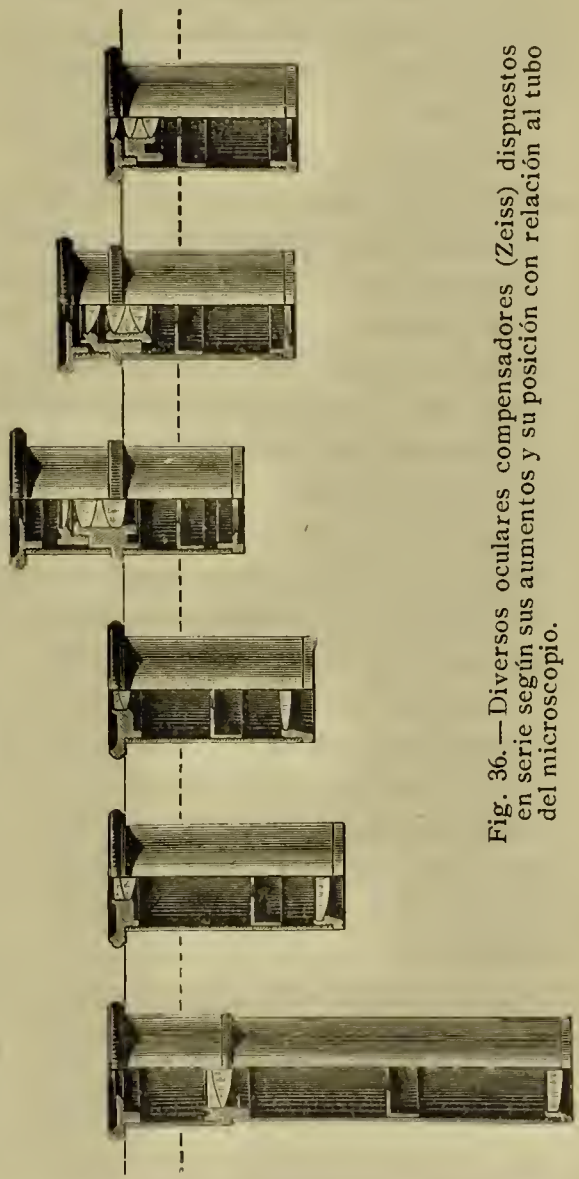

Fig. 36. — Diversos oculares compensadores (Zeiss) dispuestos en serie según sus aumentos y su posición con relación al tubo del microscopio.

Oculares (fig. 35). — El ocular es un tubo corto, que consta de dos lentes y un diafragma intermedio. Estas lentes son plano-

convexas, con la convexidad vuelta al objetivo. La lente más próxima al observador se llama *ocular* propiamente dicho, mientras que la inferior toma el nombre de *lente del campo*. El oficio de esta última es concentrar la luz destinada á formar la imagen real del objetivo, para que la lente superior ejerza su acción sobre todo el campo luminoso. La lente del campo no coadyuva, pues, al aumento, antes al contrario, disminuye algo al área del cono de proyección del objetivo; actúa solamente dilatando el perímetro observable de la imagen.

El papel desempeñado por la lente del campo se demuestra examinando sin ella una preparación: nótase que la zona visible de la imagen es muy estrecha, no permitiéndonos juzgar del conjunto de ésta, sino á beneficio de movimientos de la preparación. La luminosidad misma disminuye notablemente.

La imagen real proyectada por el objetivo es recibida un poco por encima del foco de la lente superior. Se concibe fácilmente, después de lo expuesto más atrás, que cuanto más corta sea la distancia focal de la lente superior, mayor será la amplificación. Los fabricantes construyen varios números de oculares, cuyo aumento varía desde dos á doce veces ó más.

La nomenclatura de los oculares suele ser arbitraria (números ó letras), no guardando ninguna relación con el aumento. Recientemente, Zeiss ha adoptado, para designar sus oculares de compensación, la base racional del número de veces que estas lentes multiplican la imagen engendrada por el objetivo. Así, el ocular 8, aumenta ocho veces la imagen de proyección ó del objetivo.

Oculares ortoscópicos.—El ocular ordinario, llamado también de Huyghens, no es acromático, ni necesita serlo para las observaciones comunes; pero en los trabajos micro-fotográficos convienen á veces oculares perfectamente acromatizados, los cuales, construídos primeramente por Kelner, llevan el nombre de oculares *ortoscópicos*.

Oculares micrométricos. — Son aquellos que, además de las lentes superior é inferior, encierran un micrómetro, es decir, un disco de cristal con finas rayas. Más adelante trataremos de su uso.

Oculares compensadores.—Construídos según las indicaciones de Abbe al propósito de corregir ciertos defectos de los objetivos apocromáticos, constan de dos lentes próximas: una superior, plano-convexa, y otra inferior, biconvexa ó plano-convexa, según la amplificación. Dichos oculares, cuyos números van del 1 al 18, sólo deben emplearse con los objetivos apocromáticos de Zeiss (fig. 36).

Oculares de proyección.—Ideados asimismo por el profesor Abbe, son unos oculares compuestos de una lente del campo débilmente convergente y de un ocular ó *proyector* biconvexo más pequeño y perfectamente acromático. Merced á un enchufe, la lente superior puede apartarse de la inferior.

Estos oculares están corregidos para proyectar, á distancias de 50 á 100 centímetros, imágenes reales sumamente puras, tan ventajosas para la demostración práctica ante una clase numerosa, como para la microfotografía. Esto no ocurre con los oculares ordinarios (de Huyghens y de compensación), cuyas imágenes sólo son correctas en proyecciones á cortísimas distancias.

Zeiss tiene á la venta una serie de oculares de proyección, cada uno de los cuales lleva por nombre el número de veces que amplía la imagen del objetivo. El tamaño de la imagen proyectada por el ocular (que actúa, no como los oculares ordinarios, sino como un nuevo objetivo flojo, pues da una segunda imagen real de otra real), se obtendrá fácilmente dividiendo la distancia existente entre la imagen y el ocular por la longitud focal del objetivo, y multiplicando el cociente por el número del ocular. Sea, por ejemplo, 3 milímetros la distancia focal del objetivo, 600 milímetros la de proyección de la imagen, y 4 el número del ocular, tendremos: $A = \frac{600}{3} \times 4 = 800$. Por lo demás, esta regla sólo es suficientemente exacta para los grandes aumentos.

CAPÍTULO IV

ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Cámaras claras. — Microfotografía.

A tres medios puede recurrir el micrógrafo para obtener reproducciones de las imágenes del microscopio: al dibujo directo, á la cámara clara y á la microfotografía.

Dibujo directo. — Exige hábito de copiar del natural y gustos artísticos que no siempre concurren, desgraciadamente, en los dedicados á las ciencias naturales. El material lo forman lápices Faber de números distintos, colores á la acuarela y papel marquilla ó cartulina. Sólo el trazo de lápiz reproduce suavemente el vago contorno de las células y el incierto graneado de los protoplasmas. La pluma es menos fiel y muy dada á la dureza; no obstante, nos será imprescindible cuando queramos (lo que se hace diariamente en la ilustración de los libros histológicos), convertir un dibujo á mano en una fotocincografía destinada á la impresión con el texto. Esta clase de dibujos debe ejecutarse con tinta china bien negra, y con pluma fina, como la que emplean los litógrafos. Así y todo, conviene que la reproducción fotocincográfica encomendada al grabador sea de menor tamaño que el dibujo, á fin de obtener mayor finura y disimular la irregularidad de las líneas.

Si se desea obtener en el dibujo original un modelado de fino grano, semejante al de las litografías, se usará un papel especial, graneado, en el cual se trabaja con lápices grasos litográficos. Los fondos de línea paralelas ó cruzadas se lograrán fácilmente dibujando en el papel xilotipo, muy usado hace años para los grabados de las ilustraciones. Los diseños en papel xilotipo, ó en el de grano, tienen la ventaja de poderse transformar

fácilmente en bloques fotocincográficos de impresión. El micrógrafo no debe ignorar todos estos procedimientos, que le serán imprescindibles en sus publicaciones científicas.

Cuando se deseen en la reproducción del dibujo suaves medias tintas y fondos grises, se apelará al procedimiento de grabado llamado *directo* (proceder de Meisenbach ó de retícula) hoy extraordinariamente usado para la ilustración de los libros y revistas científicas. Con el fotograbado directo cabrá convertir en clichés, no sólo dibujos, sino microfotografías. Los dibujos serán ejecutados al lavado con tinta china, ayudándose con el lápiz ó la pluma, según lo requiera la índole del objeto reproducido.

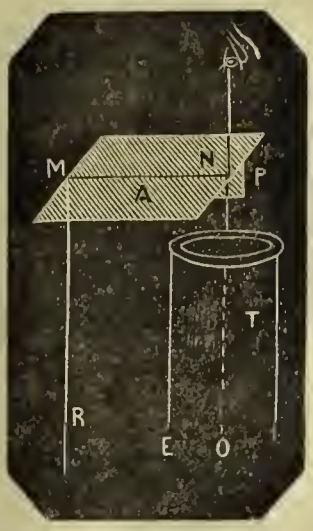

Fig. 37. — Esquema de la cámara de Nachet.—T, tubo del microscopio; A, el paralelípedo de cristal; R, rayo que llega del papel; O, rayo emanado del microscopio.

Cámaras claras.—Son aparatos cuyo objeto es la proyección virtual de la imagen sobre el papel en que se diseña, de tal suerte, que el observador perciba al mismo tiempo la preparación, el papel y el lápiz, y le sea muy fácil trazar el contorno de las células y marcar las dimensiones y distancias relativas.

Existen muchos modelos de cámaras claras; pero nosotros indicaremos solamente los usados más comunmente.

Cámara clara de Nachet (fig. 37). — Trátase un paralelípedo de cristal alojado en una caja metálica que se coloca encima del ocular. La figura 37 muestra claramente la marcha de los rayos luminosos, y da idea del mecanismo. El rayo R, procedente del papel y del lápiz situados á un lado del microscopio, aborda el paralelípedo, sufre en M una primera reflexión total, una segunda en N, y se hace, finalmente, vertical, penetrando en el ojo en la misma dirección que el rayo O emanado del microscopio. Este último rayo no experimenta ninguna desviación, gracias á que en la cara correspondiente del paralelípedo se halla pegado con bálsamo un pequeño prisma que transforma

este paraje en un cristal de superficies paralelas. El observador ve reunidos, en el interior mismo del microscopio, la preparación, el lápiz, el papel y la mano que dibuja.

Cámara de Abbe.—Consta esencialmente de dos partes: un espejo plano situado lateralmente (fig. 39, E) y un cubo de cristal montado en una armadura situada encima del ocular (A). El cubo de cristal se compone de dos prismas pegados con bál-

Fig. 38.—Cámara de Abbe inclinada para apreciar su montaje sobre el ocular.

samo de Canadá; la cara adherente de uno de ellos está azogada, menos en el centro, donde el espejito tiene una perforación para el libre paso de los rayos luminosos llegados del microscopio.

El mecanismo aparece claramente en la figura 39. Los rayos S_2, emanados del papel y lápiz, son reflejados primeramente en el espejo plano E, y después en la diagonal azogada del cubo *(c)*, en donde adquieren curso vertical, marchando confundidos y en igual dirección que los rayos del microscopio *(o)*. Estos pasan sin desviación por la perforación de la capa azogada del sistema de prismas, y el observador ve en la platina las imágenes de la preparación, del lápiz y del papel.

Para graduar bien la intensidad luminosa de la imagen del papel, se colocan en el paraje por donde los rayos de éste penetran en el cubo de cristal, vidrios ahumados ó de colores obscuros (fig. 39).

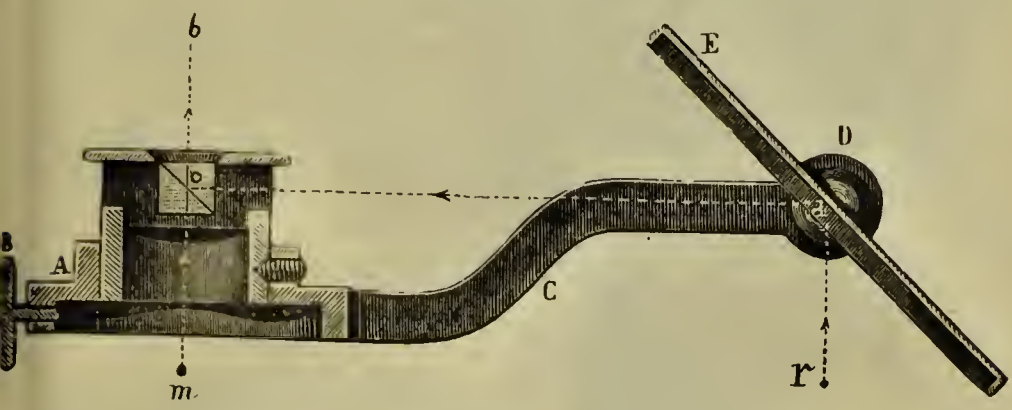

Fig. 39. — Marcha de los rayos luminosos en la cámara clara de Abbe. — S_1, rayo emanado del papel; *o*, rayo llegado del microscopio; E, espejo; *c*, cubo de cristal.

Cámara de Zeiss. — Semejante en su disposición á la de Nachet, consta de dos prismas, situados de tal modo, que los rayos luminosos que llegan del papel, después de sufrir una pri-

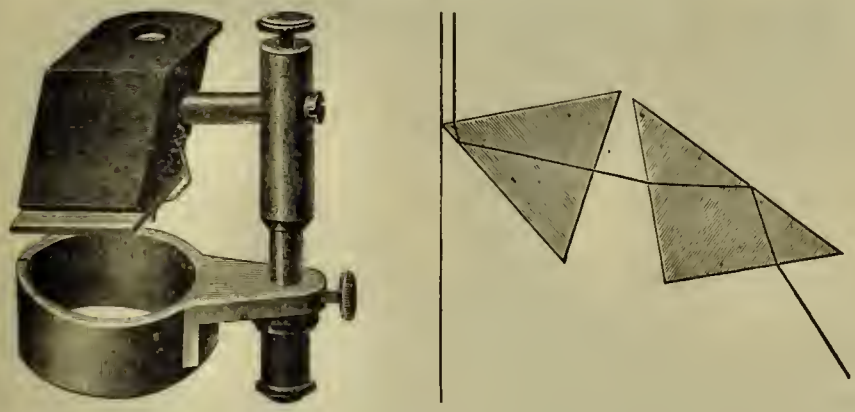

Fig. 40. — Cámara clara de Zeiss.

mera reflexión total en el prisma externo y otra en el interno, adquieren la misma dirección que los emanados del microscopio. La armadura del aparato posee, en el punto correspondiente al ocular, un agujero cuya mitad externa está ocupada por el pris-

ma interno, y cuya mitad interna queda libre para el tránsito directo de los rayos del microscopio, que penetran, unidos á los del papel, en la misma pupila del observador (fig. 40).

Actualmente se usa mucho un pupitre de dibujar muy cómodo, imaginado por Bernhard y construído por Zeiss. Merced á un ingenioso mecanismo, la mesita de dibujar puede alzarse é inclinarse lo que se desee (fig. 41).

Aparato de dibujar de Edinger. — Un simple aparato proyector de la imagen micrográfica permite ejecutar buenos dibu-

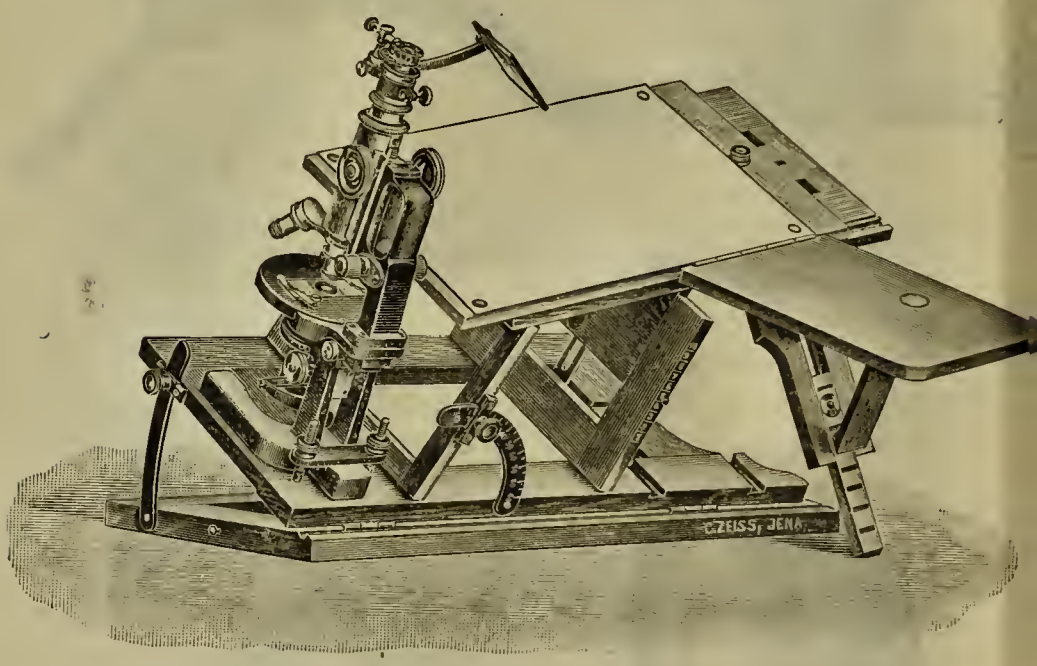

Fig. 41. — Mesita de dibujos de Bernhard, fabricada por Zeiss.

jos de las preparaciones microscópicas. Pero la recepción de la imagen sobre un telón vertical no es cómoda. Por esta razón, Edinger ha imaginado un aparato de proyección, mediante el cual el microscopio, puesto verticalmente y en alto, envía la imagen sobre una mesita horizontal. Dos largos vástagos al alcance del dibujante permiten reglar el enfoque del preparado y la marcha de la lámpara de arco, indispensable para la proyección.

Microfotografía. — La práctica microfotográfica exige el material siguiente: microscopio susceptible de inclinarse, objetivos

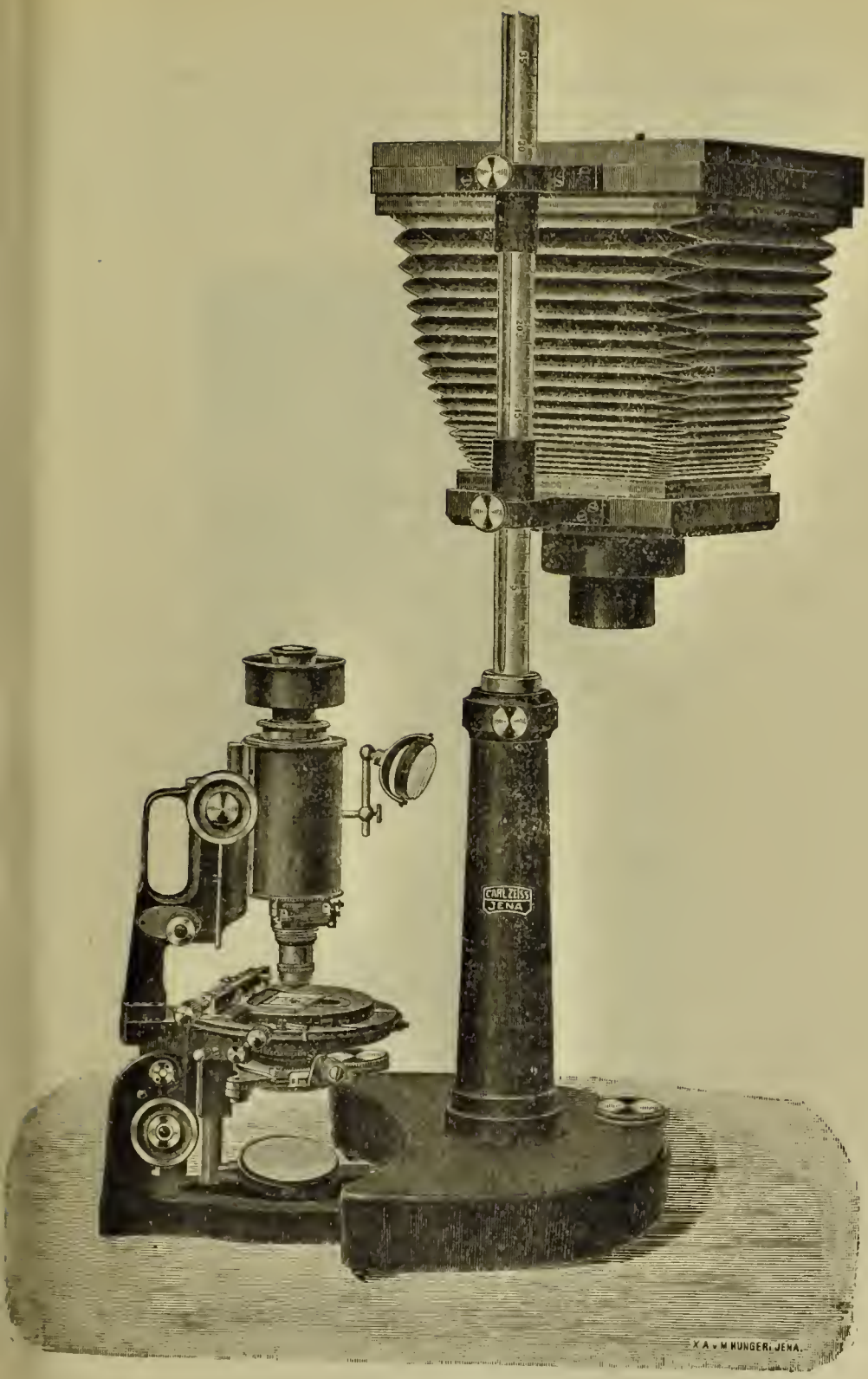

Fig. 42. — Pequeño modelo microfotográfico vertical de Zeiss.

apocromáticos y oculares de proyección, una cámara obscura fotográfica, un concentrador acromático, luz de gas, eléctrica ó solar (conducida ésta mediante un heliostato) y, finalmente, placas sensibles al gelatino bromuro de plata con los demás accesorios de fotografía.

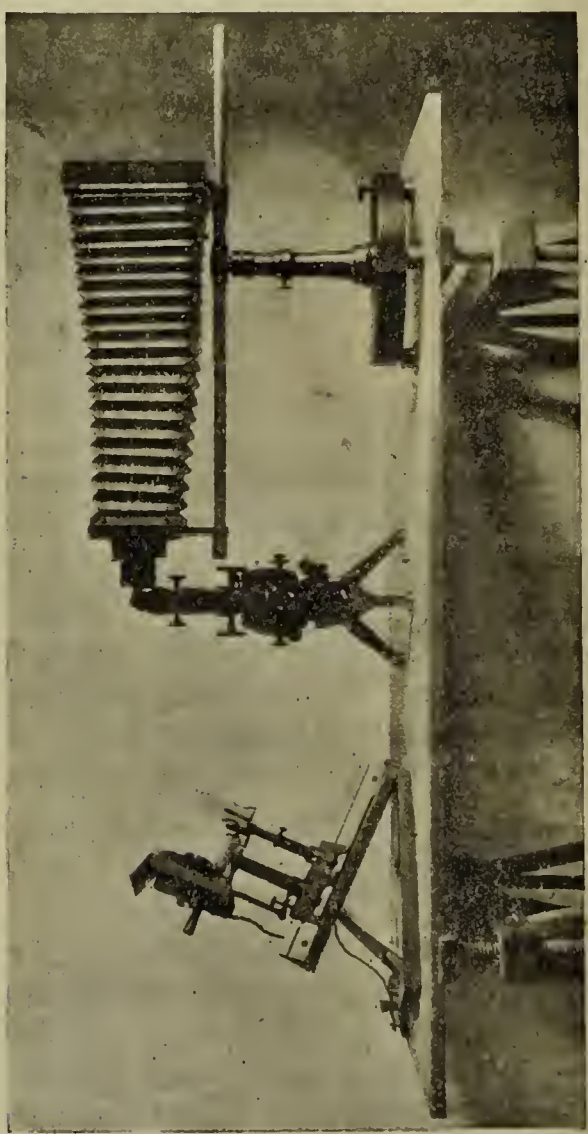

Fig. 43. — Disposición micrototográfica de Orueta.

Microscopio. — Puede servir todo modelo susceptible de inclinarse. Si se desea obtener pruebas microfotográficas de corto aumento, será preciso usar un modelo especial (modelo microfotográfico de Zeiss, por ejemplo), que permita montar objetivos

de foco muy largo (75 ó más milímetros). El pie del microscopio se fija, á beneficio de una barra y un tornillo, á una mesa ó al banco especial que acompaña á los grandes aparatos microfotográficos (fig. 44). Si la proyección de la imagen se verifica á corta distancia, el enfocamiento durante el examen de aquélla en el cristal esmerilado se efectúa con la mano; pero en las proyecciones muy distantes será preciso enfocar mediante una larga palanca unida al tornillo micrométrico. Esta varilla no falta nunca en los aparatos microfotográficos *ad hoc;* su ausencia limita la microfotografía á la obtención de pruebas de corta amplificación.

Las cámaras microfotográficas construídas por los fabricantes (Zeiss, Reichert, Leist, etc.) comprenden muchos modelos, desde el lujosísimo de Zeiss hasta los pequeños del estudiante, formados por un fuelle instalado sobre una mesa y susceptible de trabajar vertical y horizontalmente (figs. 42 y 44).

Por lo cómoda y relativamente económica, es muy de recomendar la instalación imaginada por Orueta, de que damos copia en la figura 43. Encima del objetivo se instala un prisma de reflexión total, lo que permite ajustar una cámara fotográfica horizontal, y delante del espejo, sobre la mesa de trabajo, se dispone en sentido inclinado un pequeño banco óptico con la luz (lámpara de Nernst), concentrador, cuba de agua, diafragma, etc.

Objetivos y oculares.—Hace algunos lustros se trabajaba preferentemente sin ocular y con un objetivo común, cuya imagen era proyectada dentro de la cámara obscura. En algunos casos, lográbanse por este método buenas microfotografías. El éxito dependía del empleo de objetivos *casualmente* corregidos del defecto llamado *diferencia focal.* Con los objetivos bien corregidos para la observación ordinaria, los resultados eran detestables; lo que dimanaba de dos causas: 1.° De que casi todos los objetivos comunes poseen diferencia focal, es decir, que en sus imágenes no coinciden en foco los rayos azules (que son químicamente los más actínicos) con los rayos más luminosos (rojo, amarillo y verde); así es que al examinar la placa revelada, no se encuentran en ella los detalles de la imagen proyectada en el cristal esmerilado (el foco químico se halla delante del óptico).

2.° Los objetivos comunes están corregidos para dar el máximo de detalle en proyección á corta distancia, poco más ó menos al nivel del diafragma del ocular; por tanto, toda proyección á 40 ó 50 centímetros, es ópticamente mala.

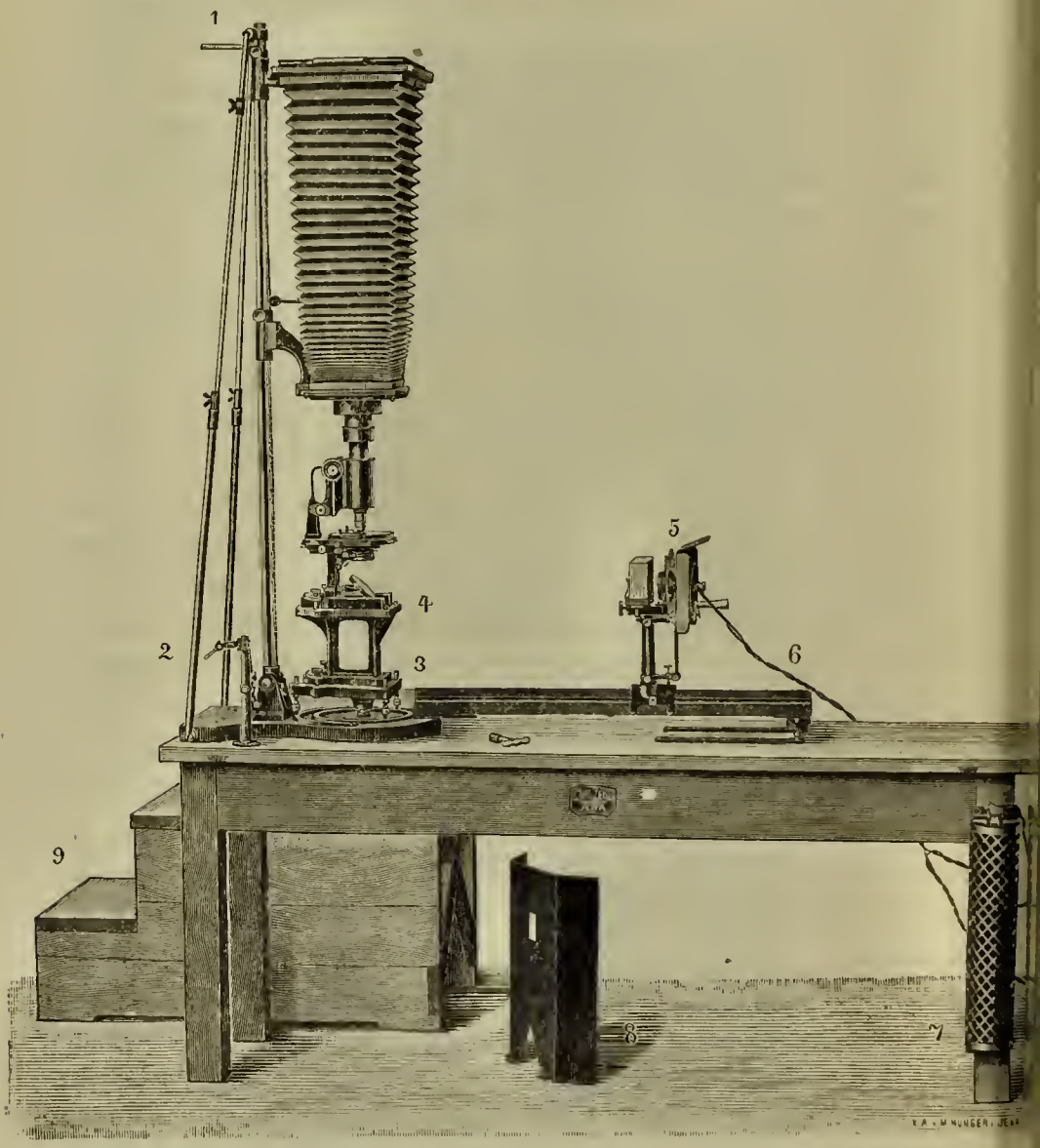

Fig. 44. — Otro modelo microfotográfico de Zeiss, dispuesto para funcionar con la lámpara eléctrica Nernst (5) y provisto de un sistema de sustentáculos de la cámara que permiten disponer ésta tanto en posición vertical como horizontal.

En vista de estos inconvenientes, que hacían casi imposible la fotografía á grandes aumentos, se han construído por diversas

casas (Leistz, Seibert, Reichert, etc.), objetivos especiales destinados á la microfotografía y caracterizados por la total ausencia de diferencia focal. Pero á todos hacen ventaja los apocromáticos de Zeiss, los cuales, como ya expusimos más atrás, dan imágenes donde coinciden focalmente los rayos violados, verdes y rojos. Estos objetivos deben usarse con los oculares de proyección, lentes expresamente construídas para dar excelentes proyecciones, á largas distancias, de la imagen microscópica.

Luz y concentrador luminoso. — Si se quiere fotografiar á cortos aumentos (de 50 á 300 diámetros), nos bastará como fuente luminosa, un buen mechero de petróleo ó de gas (el de Auer, por

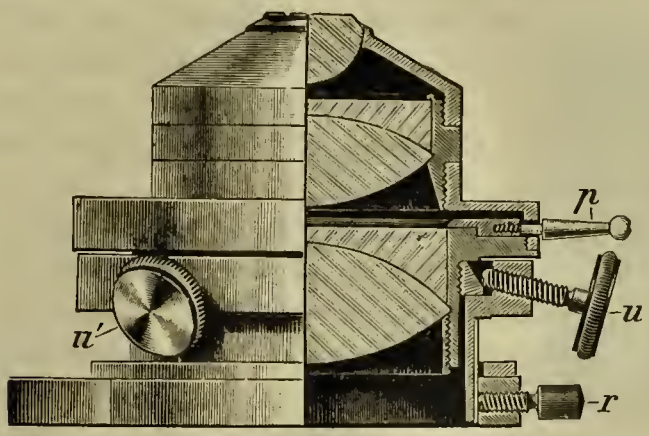

Fig. 45. — Concentrador acromático de Zeiss apropiado para la microfotografía con los objetivos de inmersión homogénea.

ejemplo). La lámpara de Graetzin con mechero invertido, será igualmente muy útil Pero el empleo de objetivos de inmersión homogénea, y las proyecciones á larga distancia, exigen el uso de la luz eléctrica ú oxhídrica, y, mejor que todas, la solar. Modernamente la casa de Zeiss ha puesto á la venta diversas lámparas de filamento incandescente (lámparas Nernst, fig. 43), muy cómodas y útiles cuando se emplean solamente medianos aumentos.

En todo caso, debajo de la platina del microscopio se instalará un concentrador acromático, destinado á proyectar, en el espesor mismo de la preparación, una imagen muy pura del foco luminoso (disco solar, llama del mechero, etc.). La luz de esta imagen es la que sirve para iluminar el preparado y dar una limpia proyección de sus detalles. Semejante requisito, ya men-

cionado por Moitessier, y sobre el que insisten Koch, Van Heurck, Zeiss, Neuhaus, Pfeiffer y Fränkel, etc., es absolutamente preciso para el logro de buenos clichés de bacterias y de texturas celulares.

Con los objetivos apocromáticos y oculares de proyección, no es absolutamente precisa la luz monocromática; no obstante, algunos microfotógrafos la juzgan útil, á fin de aumentar el poder de resolución del microscopio. Se obtiene esta luz, haciendo pasar los rayos luminosos, antes de su entrada en el concentrador, por una cuba vertical de vidrio, llena de una solución colorante, que puede ser el sulfato de cobre amoniacal (color azul, ó el filtro de Zettnow (14 de solución de ácido crómico, 160 de nitrato de cobre y 250 de agua) que da un color verde muy intenso. Ciertos autores, Orueta entre ellos, prefieren el espectro prismático, lo que exige una disposición especial del aparato iluminador.

Dicho se está que la luz solar, usada en exposiciones que no sean instantáneas, como son las que se obtienen con los rayos filtrados por soluciones coloreadas, debe manejarse con un heliostato, por ejemplo, el de Plazmowski, que siendo uno de los mejores, es al mismo tiempo uno de los más económicos.

Placas fotográficas.—Convienen las más sensibles, pues permiten exposiciones relativamente cortas, aun con la luz de petróleo. Las placas Lumière ó las de Jougla, rapidez mediana, marca azul, son excelentes á este objeto.

Hace tiempo han sido introducidas en el comercio las placas llamadas *isocromáticas,* fabricadas según los principios establecidos por el Dr. Vogel. Este sabio ha descubierto que si se mezcla á la película de gelatino-bromuro de plata un color de anilina soluble, la placa resulta especialmente sensible al color complementario, aunque éste sea de aquellos que, como el rojo, el amarillo y verde, no actúan sobre el bromuro de plata ordinario.

El Dr. Neuhauss, así como Pfeiffer y Fränkel, recomiendan especialmente las placas sensibilizadas para el verde, mediante una solución de *eritrosina;* estas placas son indispensables cuando se utiliza el filtro de Zettnow. Actualmente existen en el mercado *placas pancromáticas,* es decir, preparadas de suerte

que son sensibles á todos los colores. También las placas autocromas de Lumière dan resultados excelentes (1). Con ellas cabe reproducir el color natural de los cortes histológicos.

Los filtros coloreados, así como las placas pan ó isocromáticas, aprovechan especialmente cuando se trabaja con objetivos ordinarios provistos de foco químico. Se comprende que, en tales condiciones, las imágenes deben ser bastante puras, dado que están formadas de una sola especie de ondulación; por tanto, la imagen química y la óptica son una misma cosa. Dejamos dicho que empleando los objetivos apocromáticos, los citados filtros mejoran también la imagen; pero en tal caso, la principal ventaja buscada consiste en hacer destacar suficientemente del fondo los objetos coloreados de las preparaciones microscópicas. A este propósito, aconséjase siempre usar una cuba ó cristal cuyo color sea complementario del de las partes teñidas del preparado (núcleos, microbios, etc.).

Fig. 46. — Lente para examinar la imagen en el cristal deslustrado.

Modus operandi. — Comienza por disponerse la luz, la cuba vertical con el líquido coloreado (si hubiese lugar á ello) y el concentrador Abbe, el cual se colocará de suerte que proyecte, en el mismo espesor de la preparación, una imagen correcta del foco luminoso. Póngase, á seguida, en la platina la preparación microscópica, que debe ser muy delgada y estar teñida con colores poco fotogénicos (rosa, amarillo, verde, pardo, etc.); luego se examina esta última con el objetivo microfotográfico y el ocular de proyección, á fin de elegir la zona reproducible, fijada la cual no hay más que inclinar el tubo del microscopio y enchufarlo en el agujero de la cámara obscura. A beneficio de una lente (fig. 46), se observará si en el cristal raspado se dibuja la imagen con la debida corrección; se sustituirá

(1) Quien desee conocer detalladamente la fotografía en color, puede consultar, entre otros libros modernos, el nuestro, titulado *La Fotografía de los colores. Fundamentos científicos y reglas prácticas.* Madrid, 1912.

dicho cristal con el chasis portador de la placa; se expondrá desde algunos segundos á algunos minutos (en relación con la sensibilidad de las placas, potencia del foco luminoso, ángulo de abertura del objetivo, distancia de proyección, etc.), y se procederá á la revelación y fijado de la negativa.

Consúltense para la revelación, fijado, refuerzo, tirada de positivas, etc., los Tratados de fotografía corriente, tales como el de Londe, Dillaye y Burton, Neuhauss, Davaine, Namias (1).

Microfotografías con luz ultraviolada.—Dejamos apuntado más atrás, al tratar del poder resolutivo de los objetivos, que este poder se acrecienta usando luz monocromática de onda breve (onda azul ó violada); pero esta luz que impresiona enérgicamente la placa fotográfica, actúa débilmente sobre nuestra retina, incapaz, por consiguiente, de percibir la imagen proyectada sobre el cristal raspado.

Al propósito de soslayar este inconveniente y de aprovechar la positiva ganancia de la capacidad resolutiva de las citadas ondas breves, responde el aparato microfotográfico de Kohler, fabricado por Zeiss. De él ha dado una buena descripción Orueta (2).

Consta este aparato, como el ordinario, de concentrador, objetivos, oculares, lámpara, etc., pero con las siguientes modificaciones esenciales:

(1) Los que deseen conocer á fondo la microfotografía, deben consultar los siguientes modernos trabajos:

Neuhauss: Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschweig, 1890. (El mejor Tratado que se conoce.

Pringle: Pratical photomicrographie. New-York, 1890.

Zeiss (R.): Special-Catalog über Apparate für Mikrophotographie. Jena, 1888. (Se contienen indicaciones detalladas acerca del empleo de los aparatos Zeiss y microfotografía general).

Carl Fränckel u. Richard Pfeiffer: Mikrophotograpischer Atlas der Bakterienkunde. Berlín, 1892. (Este Atlas está precedido de un excelente estudio sobre microfotografía general).

Henri van Heurck: Le microscope, &. 4.ª edit., 1891. (Contiene un buen capítulo sobre microfotografía).

Se consultarán también con provecho las obras más antiguas de Moitessier, Stein, Gerlach, Benecke, etc., y, entre nosotros, los instructivos artículos de Orueta.

(2) *D. de Orueta:* La luz ultravioleta y sus aplicaciones en microscopia, etcétera. *Revista de la Academia de Ciencias Físicas y Naturales* de Madrid, tomo XL, núm. 10, 1913.

La luz es eléctrica y se obtiene por chispas brotadas entre dos electrodos de cadmio ó magnesio. Estas chispas son alimentadas por una botella de Leyden, á su vez cargada mediante poderosa bovina de inducción.

Como los objetivos ordinarios son casi opacos para la luz ultraviolada y poco transparentes para la violada, se usan objetivos llamados *monocromáticos,* de cuarzo fundido, substancia que deja pasar muy bien los rayos cuya longitud de onda es de 0'275 μ. También se fabrican de cuarzo los porta y cubre-objetos, los oculares y el concentrador luminoso.

Naturalmente, los objetivos carecen de corrección cromática, y su corrección esférica se ha hecho para las ondas ultravioladas. A igualdad de apertura numérica, estos objetivos poseen una capacidad resolutiva doble que los ordinarios. Así, el *objetivo monocromático ap. núm. 1'25,* equivale á un objetivo teórico (actualmente imposible) de 2'5. El líquido de inmersión es el agua, mezclada con cierta cantidad de glicerina.

Puesto que la luz emitida por los electrodos de cadmio ó de magnesio (longitud de 0'275 μ) es imperceptible en el cristal raspado, se hace preciso, para enfocar, el empleo de un *buscador,* que consiste en una placa fluorescente que vuelve visible la imagen proyectada. El examen de esta imagen se hace con una lente.

El aparato de Kohler da microfotografías sumamente finas y ricas en detalles invisibles á la observación común. Ello depende, no sólo de la superior capacidad resolutiva, sino de que muchas substancias diáfanas á la luz blanca lo son poco ó nada á la onda violada y ultraviolada.

El aparato de Kohler ha sido usado con buen resultado por Tello (1) para la demostración de muchos detalles estructurales del núcleo y protoplasma de las células nerviosas. Las imágenes obtenidas de preparaciones frescas ó simplemente fijadas en formol, recuerdan las conseguidas por la microfotografía ordinaria en cortes previamente teñidos. Esto consiste en que ciertas partes (grumos de Nissl, nucleolo, etc.), son opacos para las longitudes de onda de 0'300 á 0'400.

(1) *F. Tello:* Algunas observaciones histológicas con los rayos ultravioletas. *Trab. del Lab. de Invest. biol.,* 1911.

CAPÍTULO V

CONTINUACIÓN DE LOS ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Micrómetros, aparatos numeradores, aparato de polarización, micro-espectroscopio.

A. — Micrómetros

Dos problemas debe resolver á menudo el micrógrafo: 1.°, la determinación del aumento del microscopio; 2.°, la averiguación del tamaño real de un elemento microscópico.

Determinación del poder amplificante del microscopio. — Todos los fabricantes acompañan sus microscopios de una tabla donde figuran los aumentos obtenidos con tal combinación de ocular y objetivo; pero como no siempre esta determinación es exacta, ni aun siéndolo es valedera para todas las longitudes del tubo del microscopio, conviene que el micrógrafo conozca los medios de averiguar por sí el poder amplificante del microscopio. En rigor, pudiera utilizarse el método matemático (ya expuesto anteriormente al tratar de la fórmula del microscopio compuesto), pero es mucho más sencillo y breve el método experimental.

Este método exige el empleo: de un pequeño instrumento llamado *micrómetro objetivo,* de la *cámara clara* y de una *regla dividida en milímetros.*

El micrómetro objetivo es un disco de cristal que lleva grabadas con diamante rayas cuyos intervalos, de antemano determinados por el constructor, valen una centésima de milímetro. Este disco está fijo sobre un porta-objetos metálico, en uno de cuyos lados se lee el valor de las divisiones.

He aquí cómo se procede á la determinación de la amplifica-

ción del microscopio: se comienza por enfocar, como si fuera una preparación, el micrómetro objetivo, de modo que las rayas aparezcan netamente; luego se monta la cámara clara sobre el ocular; y en la mesa, pero á la distancia de la visión distinta (25 ó 30 centímetros), se coloca una regla dividida en milímetros. En estas condiciones, nada más fácil que ver á un tiempo, á beneficio de la cámara clara, las rayas de la regla y las del micrómetro. Suponiendo que cada intervalo de las divisiones del micrómetro valga una centésima, y que, aumentado por el microscopio, se ha hecho tan grande que ocupa tres divisiones de la regla, la amplificación será de 300 veces, puesto que una centésima ocupa la extensión de tres milímetros.

Determinación del tamaño de un objeto microscópico. — Para resolver este problema, es preciso aplicar, además del micrómetro objetivo, otro micrómetro que, por situarse en el ocular del microscopio, toma el nombre de *micrómetro ocular*. Este consiste en una rodaja de cristal con divisiones cuyo valor suele ser de una décima de milímetro, aunque, en realidad, podría ser cualquiera. Colócase dicho disco encima del diafragma del ocular, de modo que las rayas estén enfocadas con la lente superior.

La determinación de la dimensión de un objeto exige dos operaciones: 1.ª, averiguar el valor de las rayas del micrómetro ocular por comparación con las del objetivo; 2.ª, sustituído el micrómetro objetivo por la preparación, cotejar el objeto mensurable con las divisiones del micrómetro ocular.

Para efectuar la primera operación, no hay más que examinar el micrómetro objetivo á través del ocular micrométrico; con un poco de atención, se notará en seguida cuántas rayas del micrómetro ocular igualan una ó varias del micrómetro objetivo. Supongamos que una división del micrómetro objetivo es aumentada de tal suerte, que abarca dos rayas del ocular micrométrico; puesto que conocemos el valor real de las líneas de aquél (una centésima), deduciremos que, para tal combinación de ocular y objetivo, cada raya del micrómetro ocular vale media centésima, ó sean 5 milésimas.

Hecha esta determinación, pasamos á la operación segunda, que consiste en sustituir el micrómetro objetivo por una prepa-

ración, manteniendo en su lugar el ocular micrométrico. Demos ahora por sentado que una de las células, cuya talla deseamos medir, llena dos divisiones del micrómetro ocular; valiendo cada una de éstas (según determinamos anteriormente) 5 milésimas, resulta que el corpúsculo en cuestión posee un diámetro de 10 milésimas.

Por lo expuesto se ve claramente que el micrómetro ocular desempeña aquí el oficio de un término de comparación intermediario (cuyo valor se fija mediante el micrómetro objetivo), pero indispensable, por ser imposible medir directamente el objeto microscópico con el micrómetro objetivo.

No hay necesidad de valorar á cada momento las divisiones del micrómetro ocular con las del objetivo; bastará que esta operación se haya efectuado una sola vez para cada combinación de objetivo y ocular, conservando las cifras halladas y anotando la longitud del tubo. De este modo, el micrómetro ocular será sólo utilizado.

Algunos constructores de microscopios nos ahorran hasta la previa operación antes citada, puesto que entregan, con sus modelos de microscopio, una tabla donde figuran los valores que para cada combinación de objetivo y ocular tienen las rayas del micrómetro ocular.

Existen otros micrómetros más complicados, tales como el micrómetro objetivo de tornillo de Schieck y el micrómetro ocular de tornillo; pero la descripción de estos aparatos, por otra parte innecesarios, traspasaría los límites en que deseamos encerrarnos.

B. — Aparato numerador de glóbulos

El más sencillo de los instrumentos utilizados para contar el número de corpúsculos suspendidos en un líquido, es el llamado *hematímetro de Hayem,* adoptado también por Thoma en Alemania (fig. 47).

Se trata de un porta-objetos de cristal (O), una de cuyas caras ofrece una excavación de un quinto de milímetro de profundidad. Esta cavidad se cubre con una laminilla plana, con lo que

queda circunscrito un espacio ó célula de un quinto de milímetro de espesor (fig. 49, B). En la pared inferior de la célula se han trazado cuadritos, cuyos lados miden igualmente un quinto de milímetro.

Para utilizar el hematímetro, se comienza por diluir la sangre al 1 por 100 con un suero artificial ó solución salina inofensiva; se llena la célula con la mezcla sanguínea, y cubierta por la laminilla, se lleva el hematímetro al microscopio.

Los hematíes, por virtud de su peso específico, no tardan en caer en el suelo de la célula, donde podrán enfocarse al mismo

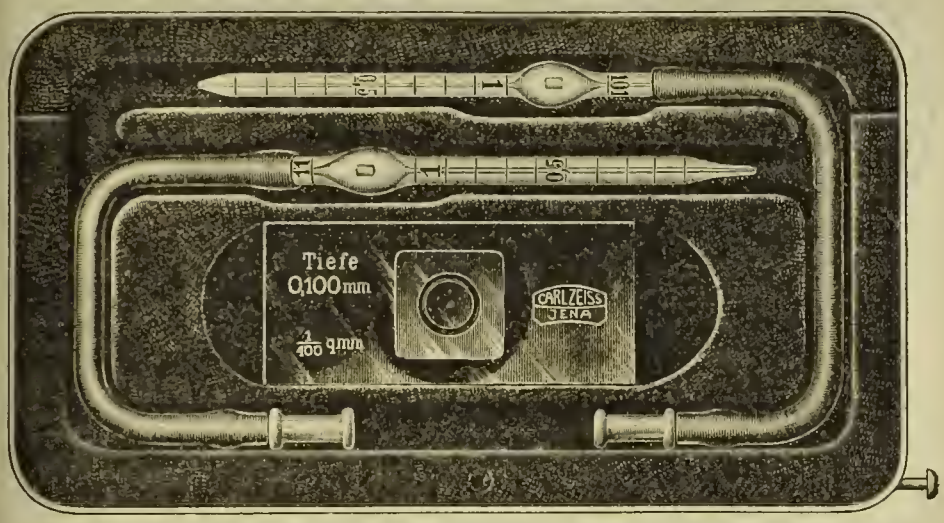

Fig. 47. — Aparato numerador de los glóbulos, según Thoma, puesto en su estuche. Consta de una célula porta-objetos calibrada y de dos mezcladores, uno para diluciones al 1 por 10 y el otro para diluciones al 1 por 100.

tiempo que las rayas de la cuadrícula. Midiendo, como más atrás hemos dicho, tanto el espesor de la célula como los lados de la cuadrícula un quinto de milímetro, está claro que los hematíes contados en el área de un cuadrito, corresponden, en realidad, á la capacidad de un cubo que posea facetas de un quinto de milímetro. Ahora, para saber el número de corpúsculos que se contienen en un milímetro cúbico de sangre, es preciso multiplicar los hematíes contados por 125 (relación entre el cubo de un quinto de milímetro de lado y el milímetro cúbico), y después por 100, título de la dilución sanguínea.

En el antiguo modelo de Hayem no existían cuadrículas ra-

yadas en la pared inferior de la célula; y para saber que los hematíes se contaban en un cuadro de un quinto de milímetro, se utilizaba un micrómetro ocular cuadriculado, á cuyos espacios se daba, por comparación con un micrómetro objetivo, el valor de un quinto de milímetro.

La mezcla de sangre se efectúa en una pequeña probeta calibrada. Cuando la cantidad destinada al examen es mínima, hay que aprovechar el mezclador Potain, es decir, un tubito capilar en cuyo término existe una ampolla (fig. 48, E). Este capilar está

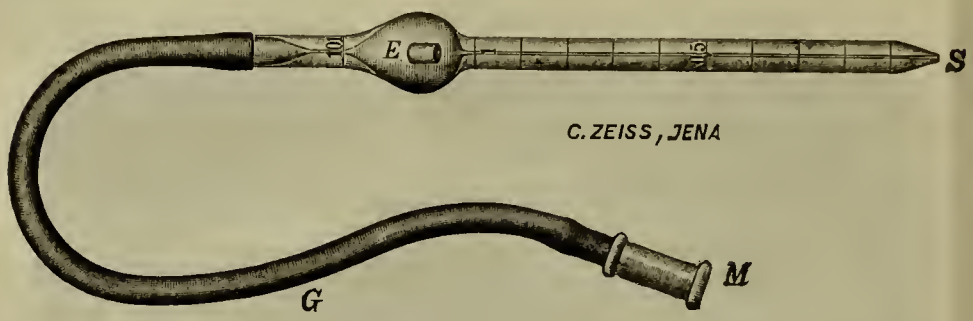

Fig. 48.—Detalles del capilar mezclador.—S, punta por donde se absorbe el líquido; E, cámara donde se hace la mezcla de sangre y líquido indiferente.

de tal suerte calibrado, que la ampolla (E) posee una capacidad cien veces mayor que el tubito fino yacente por debajo (S). Para usarlo, se llena primeramente de sangre el trayecto capilar; luego se aspira suero artificial hasta rellenar la ampolla; se agita la mezcla resultante del líquido, y se sopla sobre la célula calibrada una gota.

C.—Aparato de polarización

El aparato de polarización consta de dos piezas separadas: el *analizador* que se monta sobre el ocular, y el *polarizador* que se fija debajo de la platina, en el paraje donde se colocan los diafragmas del concentrador. Tanto el *polarizador* como el *analizador,* encierran un prisma de Nicol, ó sea un paralelípedo de espato de Islandia, seccionado según la línea que junta los ángulos obtusos, y cuyas mitades se han reunido en su posición natural con bálsamo del Canadá. Como es bien sabido, el espa-

to de Islandia es birefringente, ó, en otros términos, goza de la propiedad de producir dos imágenes de un sólo objeto iluminado. Siempre que un rayo penetra en el espato oblicuamente con relación á la sección principal (plano que contiene el eje ó línea que une los vértices de los ángulos obtusos del cristal), prodúcense dos rayos refractados: uno llamado *ordinario,* que se desvía fuertemente; otro calificado de *extraordinario,* que se inclina mucho menos. El primero, emerge vibrando en todos sentidos; el extraordinario, sale *polarizado,* es decir, vibrando solamente en un plano paralelo á la sección principal.

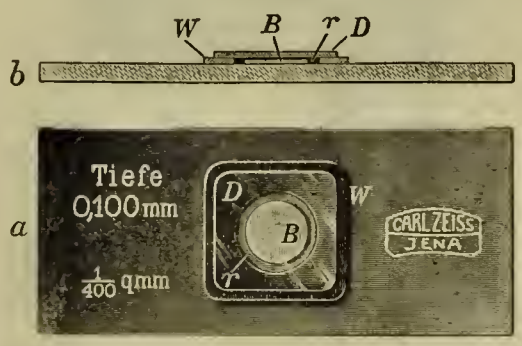

Fig. 49.—Detalles de la célula calibrada. *a,* vista de frente; *b,* vista en sección.

El prisma de Nicol realiza una ingeniosa disposición cuyo objeto es excluir el rayo ordinario y dejar paso franco al extraordinario ó polarizado.

En efecto, merced á la capa de bálsamo separatoria de las dos mitades de cristal, el rayo ordinario, que llega al medio resinoso con un ángulo mayor de 69° (ángulo límite entre el espato y bálsamo), sufre la reflexión total, siendo absorbido por la armadura metálica ennegrecida; mientras el extraordinario, que alcanza el bálsamo bajo una inclinación menor que el ángulo límite, pasa á lo largo de todo el prisma de Nicol, pudiendo aisladamente aprovecharse para la iluminación del microscopio.

Colocados el analizador y el polarizador en sus sitios respectivos, y haciendo girar el primero de modo que los planos de polarización de ambos Nicols sean paralelos, el observador verá el campo iluminado como de ordinario; mas si se mueve el analizador hasta que los planos de polarización se crucen en ángulo de 90°, el campo se torna completamente obscuro. Esta es la posición en que el aparato se utiliza para la averiguación de si un objeto microscópico es monorefringente *(isótropo)* ó birefringente *(anisótropo).* Si dicho objeto es monorefringente, el cam-

po permanece obscuro; pero si es birefringente, la luz se restablece. Ciertas partes aparecen coloreadas con vivos matices. Situando encima del polarizador delgadas láminas de mica, se acrecienta la sensibilidad del aparato.

En histología puede prestar buenos servicios el aparato de polarización, ayudando á reconocer la existencia de substancias birefringentes en el seno de ciertos tejidos. Tal sucede, por ejemplo, con la fibra muscular estriada, cuyas bandas obscuras y líneas de Krause aparecen construídas de una materia *anisótropa*.

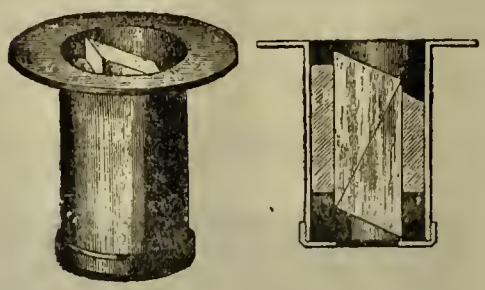

Fig. 50. — Polarizador. La figura de la derecha representa un corte vertical del aparato y muestra el prisma de Nicol; la figura de la izquierda representa el Nicol en su montura.

Pero las aplicaciones más importantes del aparato de polarización se refieren al análisis de las rocas, al reconocimiento de cristales microscópicos, al de los productos orgánicos, etc. Todos los cristales del sistema cúbico son monorefrigerantes, y birefringentes los del sistema romboédrico.

D. — Microespectroscopio

El modelo que más se emplea es el de Sorby, modificado por Zeiss. Consta de dos partes: una inferior, que no es más que un ocular, entre cuyas dos lentes (del campo y ocular propiamente dicha), existe una rendija de labios aproximables á favor de un tornillo exterior; otra superior, que contiene una combinación de prismas de visión derecha, destinados á descomponer la luz llegada del microscopio á través de la hendidura susodicha (figuras 51 y 53).

Como es muy conveniente comparar entre sí dos espectros, el de la preparación con el de una substancia cualquiera, la mitad de la rendija citada lleva debajo un pequeño prisma de reflexión total que, al paso que interrumpe una parte del pincel

luminoso emanado del microscopio, da acceso á un rayo lateral

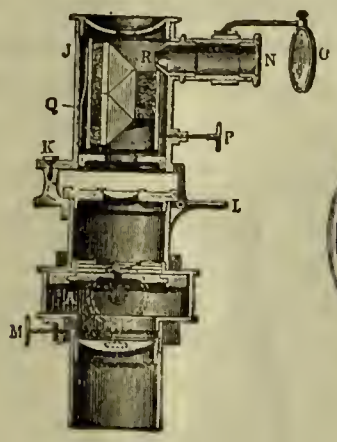

Fig. 51.—Sección del microespectroscopio para mostrar sus órganos principales.

Fig. 52.—Detalles del mecanismo destinado á estrechar la rendija por donde llega la luz del microscopio.

insinuado á través de una abertura parietal del instrumento. De

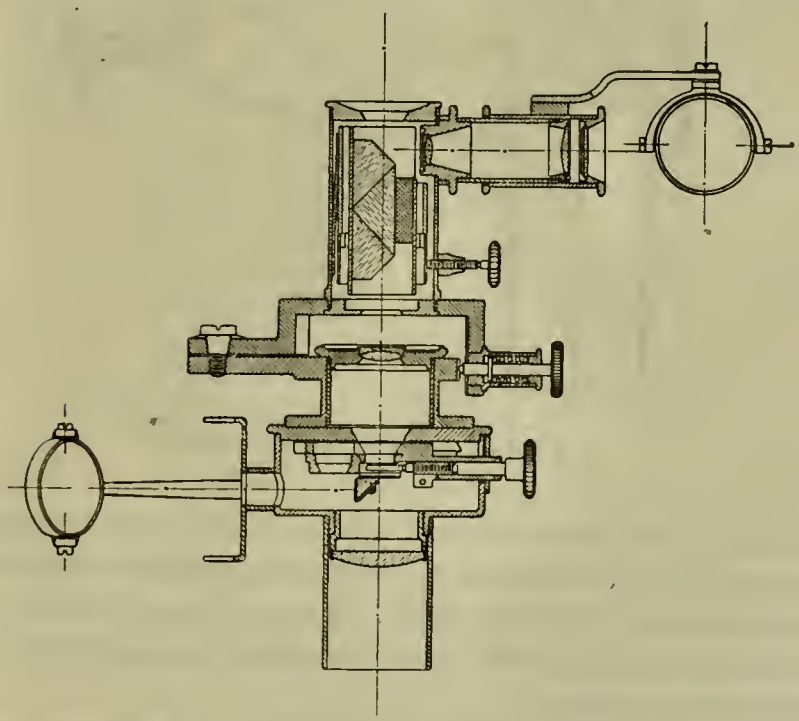

Fig. 53.—Marcha del rayo luminoso en el microespectroscopio de Sorby. En la parte superior se ve el rayo procedente del espejo lateral, destinado á iluminar la escala de las longitudes de onda. El espejo lateral inferior tiene por objeto iluminar el líquido ó substancia empleada para la comparación.

esta manera, el ojo del observador contempla juntos dos espectros, el de la preparación, más el de la luz extraña al microscopio, tamizada ó no, según convenga, por alguna substancia coloreada cuyas propiedades espectroscópicas se desean confrontar.

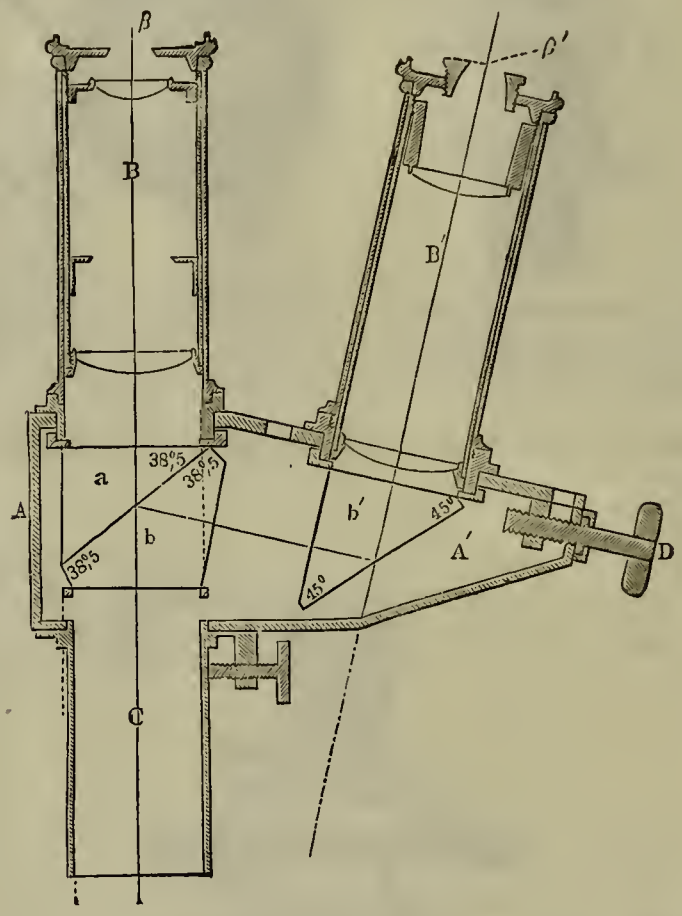

Fig. 54. — Oculares estereoscópicos.

Cuando se quiere observar el espectro de algún elemento microscópico, se comienza por disminuir la rendija hasta tocar los contornos aparentes del objeto. El espectro se extiende perpendicularmente al segmento de la hendidura ocupada por los corpúsculos coloreados.

Zeiss añade al espectroscopio de Sorby, como puede verse en la figura 51, N, un tubo lateral portador de una escala que, á beneficio de un sistema de lentes, es proyectada sobre el espec-

tro. Esta escala da las longitudes de onda (en fracción de micromilésima) de cada color espectral, y sirve para fijar la posición de las bandas de absorción engendradas por las substancias ú objetos examinados.

Microscopio binocular. — Hemos mencionado ya los microscopios binoculares de dos objetivos propios para dar la sensación del relieve. Pero este efecto estereoscópico puede lograrse también con la disposición que presentamos en la figura 54, que no exige más que el empleo de un objetivo con dos oculares y un juego de prismas de reflexión total. La bifurcación del pincel luminoso (C) y la marcha del rayo doblemente reflejado (B′) aparecen claramente en dicha figura.

CAPÍTULO VI

OBJETOS É INSTRUMENTOS NECESARIOS EN LOS TRABAJOS MICROGRÁFICOS

Porta y cubre-objetos. — Luz. — Microtomos. — Cámaras húmedas y calientes. — Objetos de prueba.

Porta y cubre-objetos. — Los *porta-objetos* son láminas de cristal de 75 milímetros de largo por unos 25 de ancho, cortadas de un cristal exento de estrías y burbujas, que sirven para el montaje de las preparaciones microscópicas.

Los *cubre-objetos,* llamados también *laminillas,* son unos cristales delgadísimos, de un diámetro variable entre 15 y 30 milímetros, destinados á cubrir las preparaciones microscópicas, á fin de hacerlas planas y protegerlas de los cuerpos extraños.

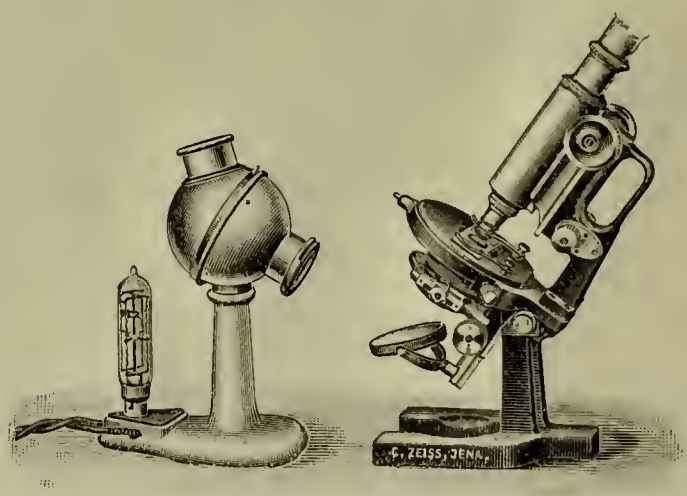

Fig. 55. — Pequeña lámpara de tipo Nernst (micro-lámpara) destinada al examen de las preparaciones microscópicas.

Se comprende bien que el tamaño y delgadez de los porta y cubre-objetos deban ser muy variables, para adaptarse á las distintas dimensiones de los preparados.

Luz para la iluminación del microscopio. — La mejor es la dimanada de las nubes blancas ó de una pared clara iluminada por el sol. Serán muy provechosas también, sobre todo cuando se trabaja con fuertes aumentos, la llama blanca de una lámpara de

petróleo (mecha cilíndrica y ancha) ó la brillante luz del gas que arde en el mechero Grætzin, el cual posee una rejilla invertida de diversos óxidos metálicos que la llama pone incandescentes. Una buena luz es la lámpara eléctrica de incandescencia, rodeada de cristal esmerilado. Para el uso de los objetivos de inmersión se emplearán lámparas de 10 á 16 bujías.

Las lámparas fabricadas *ad hoc,* como las de Swif, Collins, Vigheley y la reciente de Koch-Wolz, son, á nuestro juicio, muy inferiores á un buen quinqué de petróleo. En estos últimos

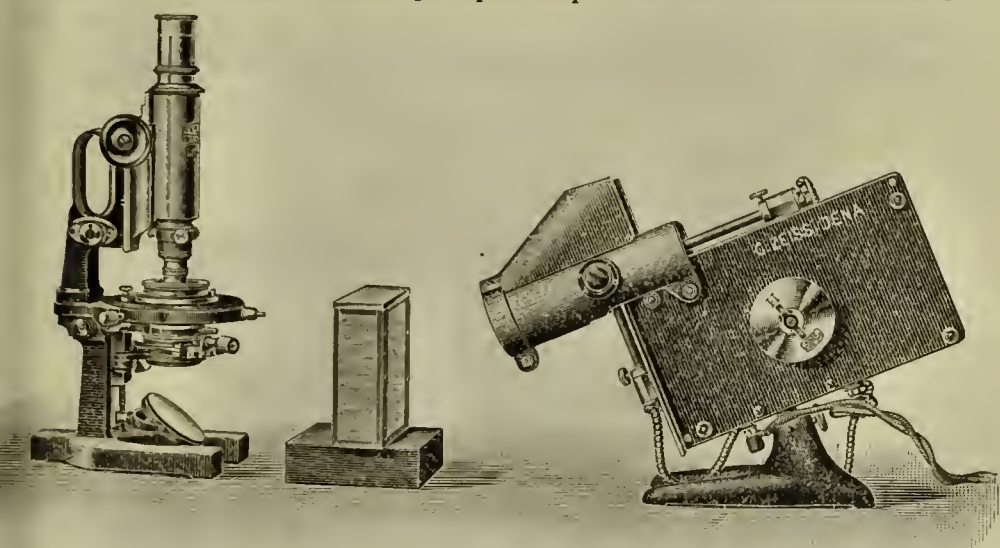

Fig. 56. — Disposición de la lámpara y del microscopio para la iluminación de fondo obscuro. La lámpara designada *Liliput* ofrece los carbones inclinados en ángulo recto, lo que permite aprovechar mejor la potencia luminosa.

años, la casa Zeiss ha propuesto el empleo de varias lámparas del tipo Nernst, singularmente apropiadas para el examen á grandes aumentos (fig. 44). Muy útil y cómodo resulta, por ejemplo, el modelo pequeño ó *micro-lámpara Nernst* (fig. 55) protegida por un casquete opaco y provista de un pequeño concentrador.

La iluminación de fondo obscuro exige el empleo del concentrador paraboloide (fig. 17) y una lámpara de arco de pequeñas dimensiones reglable á mano como la reproducida en la figura 56. A fin de evitar que la preparación se caliente demasiado, delante del espejo se instala una cuba de agua.

Microtomos. — El examen microscópico de los tejidos supone, como condición indispensable, la transparencia de las preparaciones, la cual sólo puede lograrse de una de dos maneras: ó disociando el tejido en sus elementos componentes, ó reduciéndolo á cortes sumamente delgados.

El cumplimiento de esta última condición es difícil empeño cuando se corta á mano libre, porque las secciones son desiguales, pequeñas y casi nunca inferiores á 5 centésimas de milímetro de espesor. De aquí la necesidad de ciertos aparatos, llamados microtomos, cuyo oficio es la ejecución casi automática de cortes finos, extensos y regulares de un órgano ó tejido.

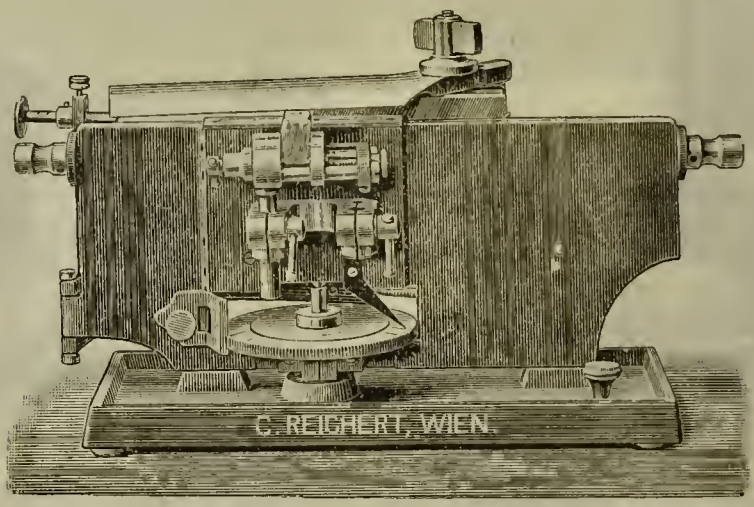

Fig. 57. — Microtomo automático de Reichert. (Pequeño modelo).

Numerosísimos son en la actualidad los modelos de microtomos empleados en los laboratorios. A pesar de la diversidad de principios en que su construcción se funda, pueden estos instrumentos clasificarse, considerando el mecanismo en virtud del cual impulsan el objeto seccionable, en dos grupos: *microtomos de tornillo y microtomos de deslizamiento.*

Microtomos de tornillo. — El más sencillo de los microtomos de esta especie es el llamado de Ranvier. Consiste en un tubo coronado en un extremo por una plataforma; en el otro, hay una tuerca donde se mueve un tornillo micrométrico vertical. El movimiento del tornillo empuja la pieza seccionable, que se

fija dentro del cilindro mediante un relleno de pedazos de médula de saúco. La navaja se desliza de plano sobre la plataforma, cortando la parte que sobresale del objeto.

Este microtomo está hoy casi del todo abandonado. Ciertos fabricantes, Zeiss, por ejemplo, han perfeccionado este aparato, añadiéndole un pie y un tornillo micrométrico con rueda graduada para apreciar el espesor de los cortes.

Fig. 58. — Microtomo de Schanze. (Modelo sencillo).

Los microtomos de tornillo empleados actualmente, son aparatos más complicados, donde el movimiento de la navaja y el ascenso del objeto se operan con gran regularidad y precisión. El tipo de estos microtomos perfeccionados está representado por el *aparato de Reichert* (fig. 60), á cuyo modelo pueden referirse, con variantes poco importantes, los microtomos de Rivet, el de Schanze (figs. 58 y 59), etc. En aquel microtomo, la navaja (M) sujeta á un bloque de metal, resbala horizontalmente por un plano inclinado situado en la cara no visible de la figura. En la superficie opuesta de la lámina vertical se halla una pinza *(h)*

que mantiene el objeto seccionable, y una pieza aplanada y vertical, susceptible de resbalar de arriba á abajo y á la cual se fija la pinza porta-objeto. Finalmente, cerca del pie, se ve una

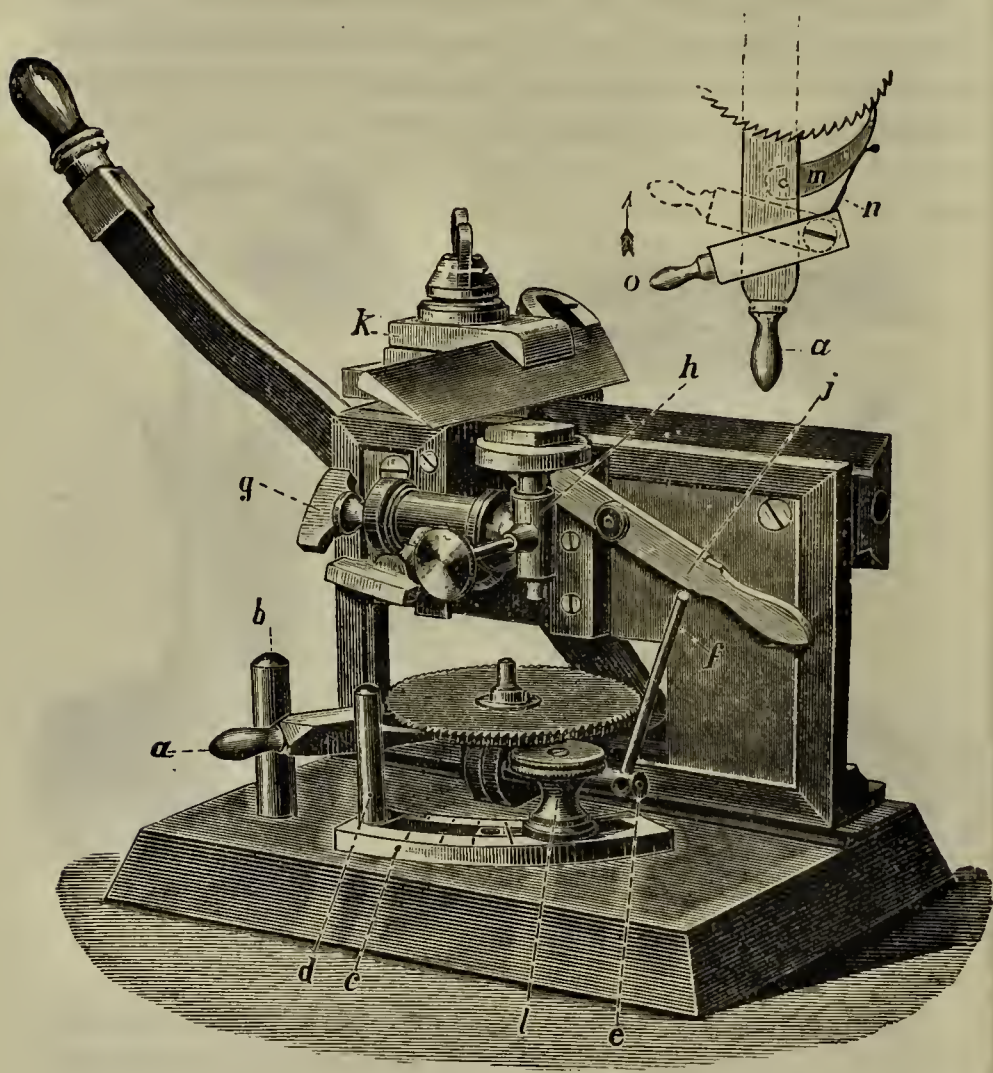

Fig. 59. — Microtomo de Schanze perfeccionado y dispuesto para cortar en parafina. Modelo llamado de Leipzig ó de palanca.

rueda dentada continuada inferiormente con un tornillo micrométrico, cuyos movimientos hacen subir la pieza vertical y el porta-objetos. En esta rueda se han trazado divisiones cuyo valor, con relación al ascenso de la pieza seccionable, es de tres μ. Añadamos aún que el bloque portador de la navaja, al deslizar-

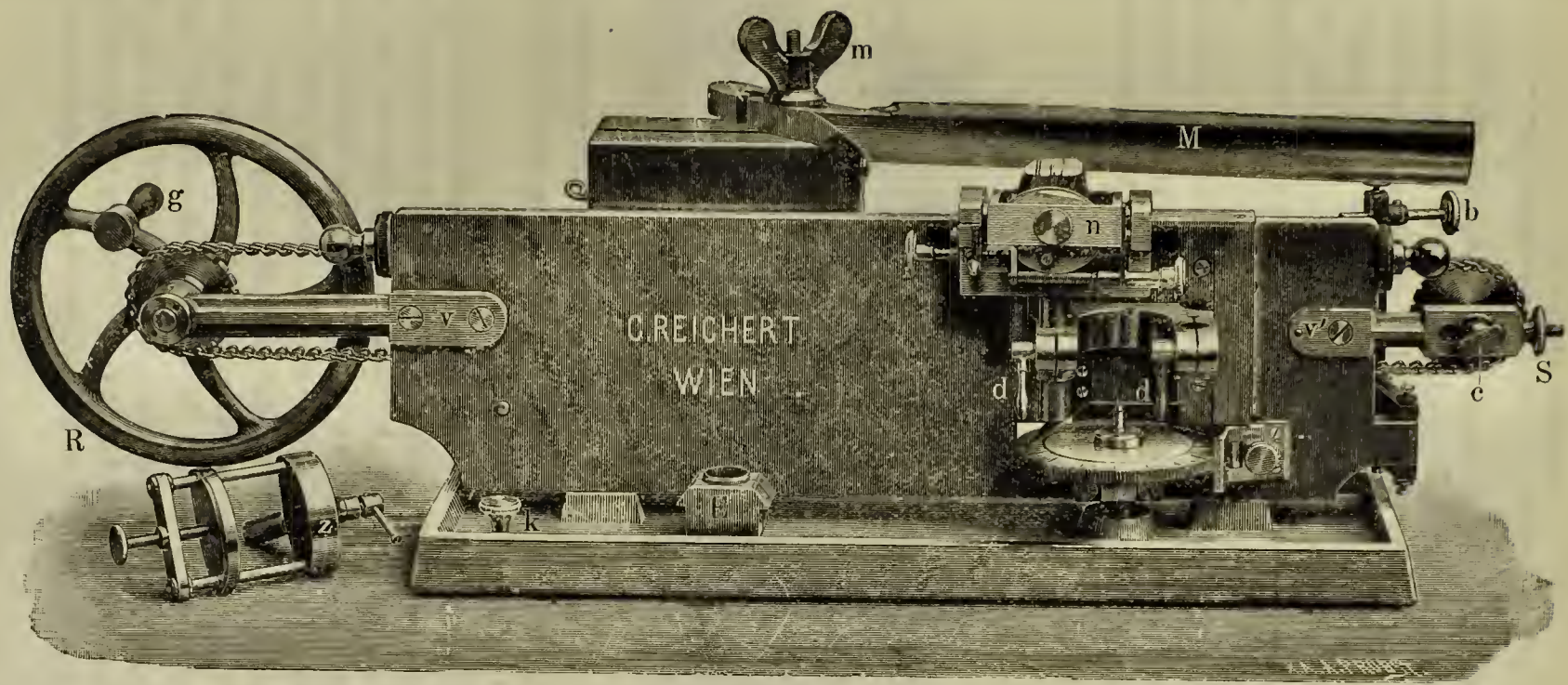

Fig. 60. — Microtomo de Reichert automático y con volante para dar movimiento á la navaja.

se hacia adelante, choca con una palanca angular articulada que, á su vez, engranando en la rueda, hace girar ésta y el tornillo micrométrico; de este modo con el mismo impulso impreso á la navaja se efectúa el corte y el ascenso de una nueva porción de la pieza seccionable. Recientemente, Reichert ha añadido un volante y una manivela, á fin de mover con más comodidad y regularidad el bloque portador de la navaja (fig. 60).

Becker, de Gottinga, construye un microtomo de tornillo singularmente perfeccionado y propio para conseguir cortes de varios centímetros de extensión. El movimiento de bloque por-

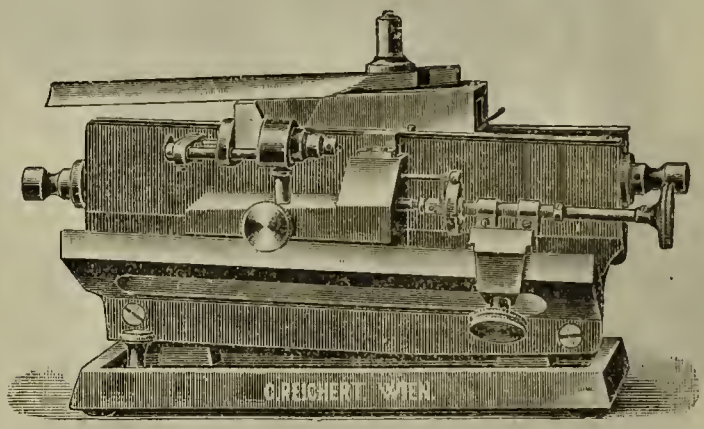

Fig. 61.—Pequeño modelo Thoma-Jung, simplificado por Reichert.

tador de la navaja es automático, realizándose mediante una rueda, asociada á un sistema de correas y palancas que hacen girar el tornillo micrométrico.

También es excelente el modelo de Schanze perfeccionado (fig. 59). El movimiento de la navaja tiene lugar á favor de larga palanca, mientras que la rueda dentada gira por la impulsión de un resorte *(a)*, cuya excursión angular detiene un tope *(d)* vertical. Este tope, que es movible, lleva en su pie ciertas divisiones *(c)*, que corresponden á gruesos de los cortes.

Microtomos por deslizamiento.—El tipo de estos microtomos es el de *Thoma-Jung* (fig. 61), que actualmente fabrican también, con algunas variantes de construcción, Becke, de Gottinga, Leitz, de Vetzlar, Reichert, de Viena, y Verick, en París.

A la manera del modelo antes descrito, el microtomo de Tho-

ma consta de pie sólido cuadrilongo y lámina vertical, en una de cuyas caras se ve una resbaladera ó carril para el bloque conductor de la navaja. Pero lo que da carácter á estos microtomos es el mecanismo de ascenso de la pinza porta-objetos. En una de las caras del soporte vertical aparece una lámina metálica inclinada en dos sentidos, es decir, formando ángulo con la horizontal y con el soporte vertical citado. En este plano inclinado se mueven dos piezas: un bloque que mantiene una pinza porta-objetos capaz de toda suerte de movimientos, y una pieza pesada, susceptible de ser sujeta á la resbaladera, sobre la cual se

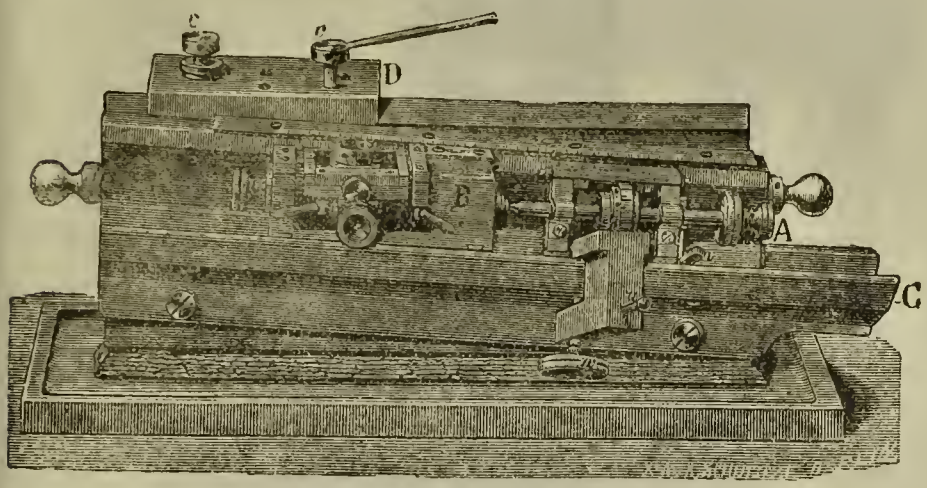

Fig. 62.— Microtomo por deslizamiento. Modelo Thoma-Jung.— A, tornillo micrométrico; B, bloque portador del porta-piezas; C, plano inclinado; D, pieza sobre la que se fija la navaja.

desliza impulsada por un tornillo micrométrico horizontal. Como la pieza porta-objetos asciende al resbalar, la navaja puede cortar sucesivamente nuevas capas de la pieza seccionable. El tanto de ascenso de porta-objetos puede determinarse fácilmente consultando el tambor en que remata hacia atrás el tornillo micrométrico, tambor que, á favor de una combinación ingeniosa, permite dividir la vuelta en fracciones hasta de una μ.

Hay otros tipos microtomos que desvían algo de los anteriores; tales son: el *automático de Minot,* el *de palanca de la Sociedad de Cambridge* y otros varios. Estos microtomos, de alta precisión, y perfectamente automáticos, se emplean exclusiva-

mente para obtener series de cortes con las piezas englobadas en parafina.

El *microtomo de Minot,* que es uno de los más sólidos y perfectos, no debe faltar en ningún buen laboratorio de micrografía (fig. 63). La navaja está fija, y el movimiento de vaivén, indispensable al porta-piezas, así como la sucesiva impulsión de éste para ofrecer nuevas capas al filo, está reglado por un mecanismo muy semejante al de las máquinas de coser. Al bloque

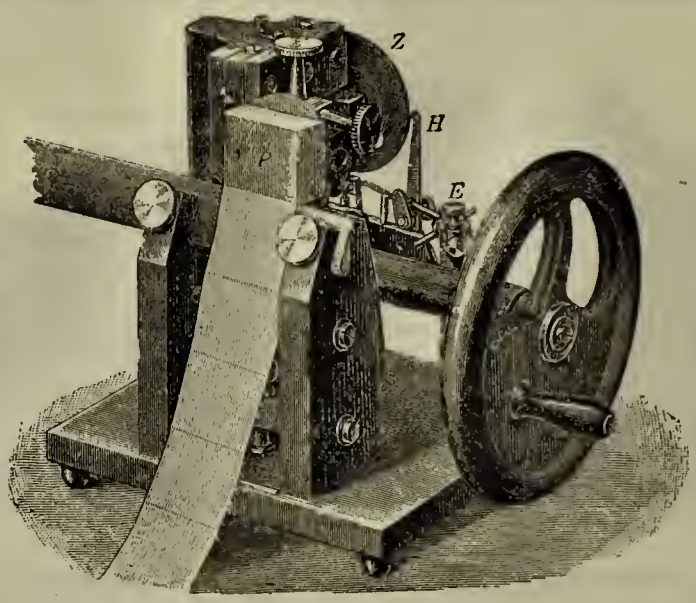

Fig. 63. — Microtomo automático de Minot para practicar secciones en parafina.—P, parafina; Z, rueda dentada unida al tornillo micrométrico.

donde se sujeta la navaja puede fijarse una larga cinta de tela, donde se recoge la serie de cortes.

En fin, existen también microtomos de gran tamaño, propios para seccionar cerebros enteros. Su principio es el aplicado en el pequeño modelo de Ranvier; tal es, por ejemplo, el microtomo de Gudden representado en la figura 64; semejante es también el construído hace tiempo por Nageotte, aunque hace ventaja al precedente por el automatismo del movimiento del cuchillo. Análogo al de Nageotte, con algunos perfeccionamientos, es el modelo de Brodmann, propio para la sección de

piezas voluminosas y especialmente usado en el *Laboratorio Neurobiológico,* de Berlín, dirigido por el Dr. O. Vogt.

Microtomo de congelación.—En cualquiera de los microtomos citados, puede realizarse la congelación de las piezas seccionables, con sólo trocar la pinza porta-piezas ordinaria por una cajita especial, construída de madera y coronada por una plataforma de zinc. En esta plataforma se deposita el objeto destinado á la congelación. En dicha cajita, y con ayuda de un pulverizador, se hace penetrar un chorro de éter ó, mejor, de cloruro de metilo, el cual, evaporándose casi instantáneamente, roba calor al objeto y determina su solidificación. Los cortes se recogen en agua alcoholizada ó en solución de sal común; luego se fijan en alcohol fuerte y coloran convenientemente (fig. 65).

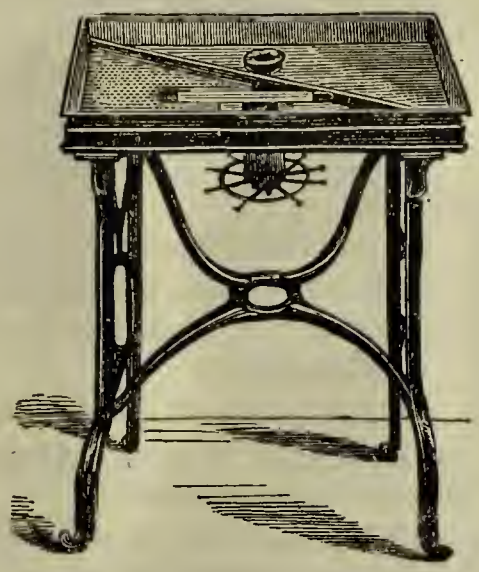

Fig. 64. Microtomo de Gudden para sección de cerebros enteros.

En estos últimos años se hace mucho uso de los microtomos de congelación, porque permiten obtener en pocas horas cortes finos de una pieza normal ó patológica. La boga actual es debida, por un lado, á la comodidad del empleo del ácido carbónico líquido para la producción casi instantánea de bajísimas temperaturas, y de otro, al hecho bien comprobado de que los tejidos congelados no se alteran, si previamente fueron fijados en formol al 12 por 100. Diversas casas constructoras (Beck, Leitz, etc.), han imaginado modelos sencillos, económicos, de microtomos de congelación, en los cuales la navaja, que gira en arco de círculo, ataca perpendicularmente la pieza. El usado por nosotros, y fabricado por Leitz, sujétase fácilmente al borde de una mesa. En cuanto al ácido carbónico líquido, hoy es común en el comercio, expendiéndose encerrado en grandes reservorios cilín-

dricos de hierro, de donde, mediante apropiada tubuladura y un juego de llaves, pasa instantáneamente á la cámara pulverizadora del microtomo. Congelaciones eficacísimas consíguense en menos de un minuto. La solidificación no debe, empero, ser excesiva, porque las piezas se tornan friables y los cortes se arrollan y rompen como las secciones de la parafina demasiado dura. Con un poco de práctica se consigue pronto la temperatura más favorable.

Las operaciones necesarias para obtener cortes con el microtomo de congelación son:

1.° Fijación de las piezas en formol al 12 por 100 durante veinticuatro horas.

2.° Lavado por pocos minutos en agua para extraer el exceso de formol.

3.° El bloque destinado á las secciones (que deberá tener, cuando más, medio centímetro de espesor) se monta en la plataforma del microtomo lubrificado con agua.

4.° Congelación.

5.° Los cortes, recogidos de la navaja mediante un pincel, se llevan al agua, ligeramente formolizada (al 4 por 100), donde se desarrollan y extienden.

6.° Coloración de las secciones por los diversos métodos (hematoxilina, anilinas, etc.).

La congelación es trámite necesario para la coloración de los cortes del tejido adiposo (fórmula al *Sudán III),* y del método de Bielschowsky para el teñido de las neurofibrillas.

Advertencias sobre los microtomos.—1.ª Cuando no se pueda comprar más que un microtomo, debe darse la preferencia á los universales, es decir, á los que sirven para cortar en parafina y celoidina (modelos de Thoma-Jung, Reichert, Schanze, Becker, etc.).

2.ª En estos modelos téngase en cuenta que la dimensión de los cortes guarda relación con la longitud del microtomo; así, con microtomos cortos, donde la navaja no tiene campo de excursión, es imposible hacer secciones extensas (por ejemplo, de un globo ocular entero).

3.ª La pinza porta-piezas debe permitir toda clase de movi-

mientos. La forma de pinza más aceptable es la llamada del *Laboratorio de Nápoles,* adoptada hoy por casi todos los constructores.

4.ª El éxito de la microtomía depende, en general, de dos condiciones: de un perfecto endurecimiento y encastramiento (en celoidina, parafina, etc.) de la pieza; y de que la navaja esté bien afilada, para lo cual el principiante deberá acostumbrarse á repasarla sobre la piedra fina y en la correa cuantas veces necesite usar el microtomo.

Fig. 65. — Microtomo de congelación con éter.

5.ª La navaja debe cortar todo lo oblicuamente posible, como serrando, aprovechando al efecto casi todo el filo del instrumento.

6.ª El bloque conductor de la navaja, en los microtomos por deslizamiento, ha de ser pesado con relación á la misma, á fin de que no cabecee ú oscile al imprimirle movimiento con la mano. He aquí por qué los pequeños modelos de microtomo son de difícil manejo.

Objetos de prueba. — Con el fin de poner de manifiesto las cualidades del microscopio, y especialmente su poder resolutivo, se han empleado objetos que exhiben finísimas estrías. Entre ellos deben contarse ciertas *diatómeas,* tales como la *Pleurosigma angulatum* y la *Amphipleura pellucida,* así como la placa de Nobert, es decir, un porta-objetos de cristal, sobre cuyo centro aparece adherido un cubre-objetos, en el cual se han trazado con diamantes finísimas líneas paralelas. Estas divisiones se disponen por grupos, de los que el último (grupo 19) contiene rayas tan finas, que se necesitan 4.430 de ellas para llenar un milímetro.

Recientemente, Abbe ha ideado otro objeto de prueba, propio

para determinar hasta qué punto el objetivo se halla corregido de las aberraciones cromática y esférica y cuál es el espesor del cubre-objetos que conviene para un objetivo y una longitud dada del tubo del microscopio. Consiste dicho aparatito en un porta-objetos donde, á favor del bálsamo del Canadá, se han fijado seis cubre-objetos de espesor diverso y azogados por su cara adhe-

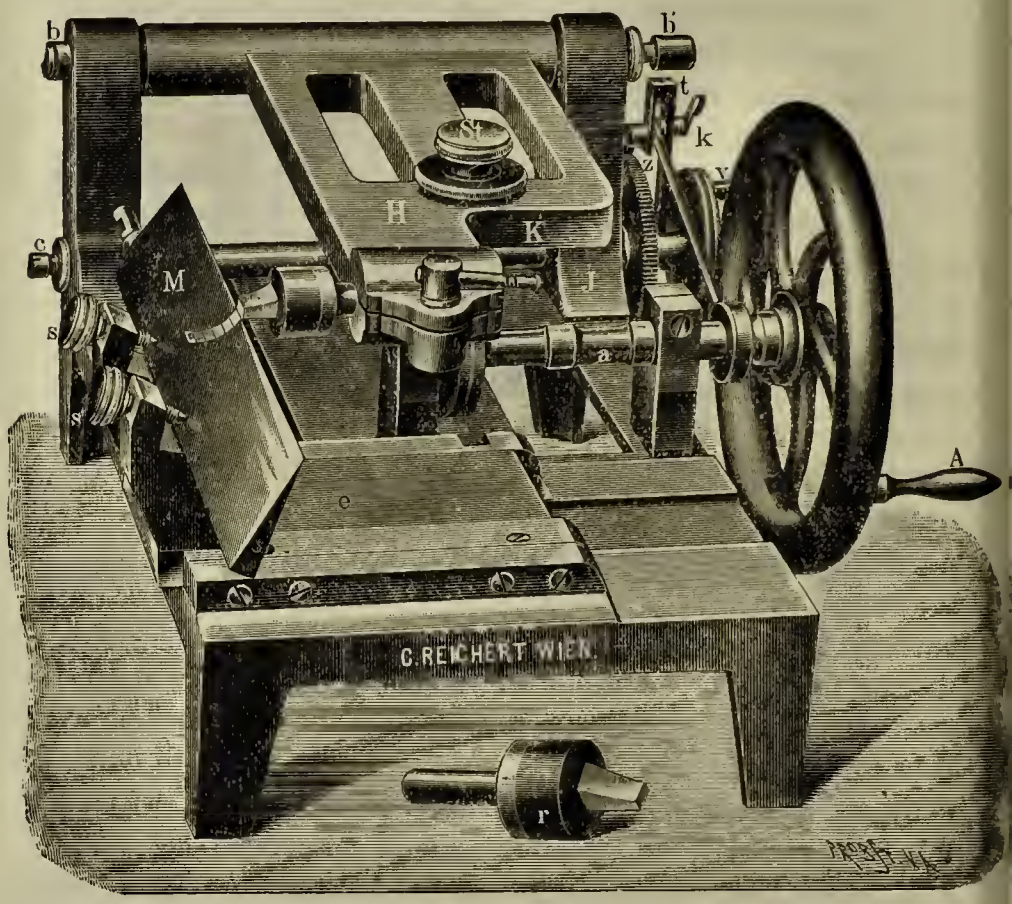

Fig. 66. — Microtomo de Cambridge. Modelo modificado por Reichert.

rente. Sobre la superficie metálica han sido trazadas con diamante seis bandas de líneas sumamente finas.

Pinceles para recoger los cortes de la cuchilla del microtomo; *paletas metálicas* para trasladarlos al porta-objetos; *pocillos* de porcelana ó de cristal (como los usados por los acuarelistas) para tratar las secciones con diversos reactivos; *agujas para disociar* y también para trasegar los cortes de un pocillo á otro;

frascos cuenta-gotas para lubrificar la preparación, puesta en porta-objetos, con líquidos aclaradores; *tijeras*, *pinzas* y *escalpelos finos* de disección, etc., son enseres que no deben faltar nunca en la mesa del micrógrafo.

Cámaras húmedas.—Son aparatos consagrados á evitar la desecación de las preparaciones microscópicas, bien durante la observacion, bien durante las diversas operaciones de fijado, teñido, etc., de los elementos anatómicos. Existen dos tipos de cámaras húmedas, la llamada *de porta-objeto* y *la de campana*.

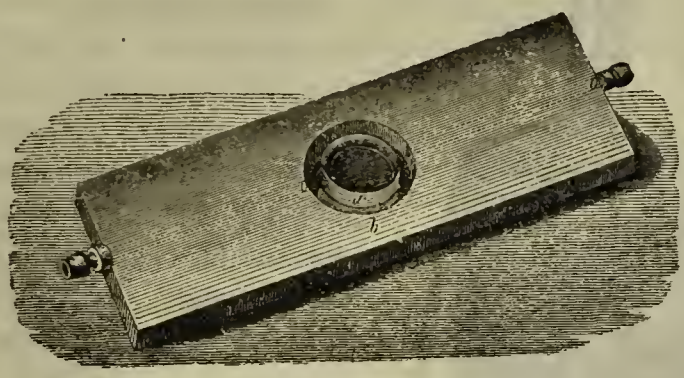

Fig. 67.— Cámara húmeda y para gases.

Cámara húmeda porta-objetos.—No es otra cosa que una lámina de cristal en cuyo centro ha sido esculpido un surco circular. Su empleo es el siguiente: se pone en el surco una gota de agua y en el área rodeada por aquél la preparación viva cuyos elementos deseamos estudiar; el todo se cubre con una laminilla que puede cementarse al porta-objetos. La evaporación del agua en la cámara de aire que circunda la preparación evita la desecación de ésta.

Si á la cámara de aire circular se hacen llegar dos tubitos destinados á conducir un gas cualquiera, tendremos la *cámara de gases* que hemos representado en la figura 67.

Cámara húmeda de campana. — Se emplea para mantener húmedos los preparados microscópicos ínterin dura su teñido. Consiste en un recipiente semilleno de agua, del que sobresale un apoyo de cristal, donde se mantienen las preparaciones. El

todo se encierra con una campana de vidrio, con lo que el aire interior se satura de humedad, impidiendo la desecación de los objetos.

Cámara húmeda de Strasburger.—Extremadamente simple, pues se reduce á un recorte anular de papel de filtro mojado y pegado al centro de un porta-objetos. En el hueco circuído por el papel se sitúa el preparado, y encima se adapta el cubre-objetos, que adhiere fácilmente al papel chupón.

Fig. 68.—Cámara caliente de Pfeiffer.

Cámaras calientes.—Son aparatos del tipo de las incubadoras, cuyo fin es mantener la preparación, durante el examen micrográfico, á una temperatura de 37 á 40°. Estos aparatos son indispensables para la observación de las células vivas de los animales de sangre caliente, y se emplean asociados á la cámara húmeda porta-objetos.

Casi todos los modelos de cámara caliente se reducen á una caja metálica, de paredes huecas, que se coloca en la platina del microscopio, y por cuyo interior circula agua caliente. En las cámaras antiguas, como la de Ranvier, el agua sube á la cavidad parietal de la caja, desde un recipiente calentado con la lámpara de alcohol; pero en los nuevos aparatos el agua se calienta con mechero de gas, manteniéndose una temperatura de 39° con ayuda de un termo-regulador de mercurio ó de membrana de caoutchouc, exactamente lo mismo que en las estufas de incubación ó de vegetación de microbios.

Todos estos aparatos tienen el inconveniente de que no se sabe á punto fijo cuál es la temperatura á que se halla la pre-

paración, pues hallándose ésta bañada por capas de aire continuamente renovadas, sufre grandes alternativas de calor y frío. Para obviar este defecto, Zeiss construye una cámara caliente que abarca la casi totalidad del microscopio (fig. 68). Este aparato, llamado *cámara de Pfeiffer,* es una caja cúbica de madera, cuyo suelo, formado por una lámina metálica, se calienta directamente con un mechero de gas. El hueco está lleno de aire y aloja el microscopio y la preparación. Las paredes de la caja muestran varias aberturas, una delante protegida por un cristal por donde penetra la luz, y dos laterales para que las manos del observador puedan manejar el preparado. En lo alto asoman el tubo del microscopio y el tornillo micrométrico. Un termo-regulador de mercurio mantiene la constancia de la temperatura.

El afán de hacer llegar bien íntimamente el calor al preparado, ha movido á Ranvier á sumergir directamente en agua el microscopio. Es difícil evitar que la acción del líquido estropee el instrumento; así el procedimiento de Ranvier ha sido poco imitado.

CAPÍTULO VII

B.—*Reactivos.*

Definición y clasificación de los reactivos.
Reactivos indurantes, fijadores, aclaradores, opacantes, aisladores y alterantes.

En histología califícanse de *reactivos* todas las substancias capaces de imprimir en los tejidos modificaciones físicas ó químicas, por cuya virtud pueda venirse en conocimiento de la estructura y relaciones de los elementos anatómicos.

La importancia de los reactivos histológicos se echa de ver considerando que no basta el microscopio para que el observador pueda apreciar la morfología y demás propiedades de las células. Existen tejidos, tales como el conectivo, el corneal, el nervioso, el endotelial, etc., cuyos elementos, ora por su total ausencia de color, ora por el escaso contraste de los índices de refracción de sus partes integrantes, preséntanse al micrógrafo bajo la máscara de una homogeneidad que oculta texturas complicadas, solamente denunciables por la virtud reveladora de los reactivos colorantes.

Este singular poder revelador de los reactivos manifiéstase de una de las tres siguientes maneras: 1.ª, cambiando la relación de los índices de refracción de células y substancias intercelulares; 2.ª, fijando en ciertas partes de los tejidos un color ó una substancia opaca que rechazan las demás; 3.ª, destruyendo determinadas materias para dar resalte á otras que se manifiestan refractarias.

Clasificación de los reactivos. — Para clasificar los reactivos no debe adoptarse una base *puramente química,* pues que nada nos ilustraría tocante al modo de acción de los mismos; es mucho más ventajoso distribuir los reactivos, atendiendo á la *modifi-*

cación que engendran en las tramas orgánicas, y por cuya virtud son útiles en las indagaciones citológicas é histológicas. Caso que un reactivo provoque dos ó más acciones, se incluirá en el grupo correspondiente á su virtud predominante.

He aquí la clasificación:

- **Los reactivos obran:**
  - Coagulando los albuminoides de los tejidos
    - indurantes: alcohol, bicromato de potasa, formol, acetona, etc.
    - fijadores: bicloruro de mercurio. mezcla de Flemming. ácido tricloracético, etc.
  - Cambiando los índices de refracción
    - aclarantes: esencias, bálsamos.
    - opacantes: agua, alcohol, éter, etc.
  - Disolviendo ciertas partes de los tejidos
    - aisladores: alcohol al tercio. potasa al 40 por 100. ácido nítrico al cuarto, etc.
    - alterantes ó ablandantes: ácido hidroclórico al cuarto. ácido pícrico á saturación. ácido nítrico, etc.
  - Colorando ciertos elementos
    - colorantes sin descomposición: carmín. hematoxilina. colores de anilina, etc.
    - colorantes con descomposición: cloruro de oro. nitrato de plata. ácido ósmico. cromato argéntico, etc.
  - Conservando inalterables los elementos
    - inofensivos: solución salina débil. licores de Ringer, de Locke, etc. humor ácueo, plasma sanguíneo.
    - conservadores: glicerina. bálsamo del Canadá, etc.

REACTIVOS INDURANTES

Los reactivos indurantes son los agentes de que se sirve el micrógrafo para acrecentar la consistencia de los tejidos destinados á ser reducidos á finos cortes microtómicos.

El mecanismo más general de acción de tales substancias es la coagulación de las materias protéicas intra ó extracelulares; no deja de intervenir también la sustracción del agua (acción del

alcohol) y la formación, en presencia del reactivo, de compuestos sólidos, cuya consistencia se añade á la del tejido. Los reactivos más útiles de este grupo son: el alcohol, el bicloruro de mercurio, el bicromato de potasa, etc.

Alcohol.—Elíjase, al objeto de indurar, el alcohol absoluto ó, por lo menos de 40° (Cartier). Las piezas deben ser de pequeño tamaño, y permanecerán de dos á tres días en el líquido, el cual será abundante y se renovará dos ó tres veces.

Bicromato de potasa.—Las soluciones de bicromato de potasa al 3 ó 4 por 100, renovadas tres ó cuatro veces durante un mes ó dos, induran perfectamente los centros nerviosos. La indura-ción se termina por inmersión de las piezas durante algunos días en alcohol fuerte.

Usanse mucho también el líquido de Müller y el de Erlicki:

Líquido de Müller...	Agua destilada.....	100
	Bicromato de potasa.....	2'5
	Sulfato de sosa.....	1
Líquido de Erlicki...	Bicromato de potasa.....	2'5
	Sulfato de cobre.....	0'5
	Agua.....	100

Acido crómico.—Ha caído algo en desuso como indurante ante el favor creciente del bicromato de potasa. Su acción es muy enérgica, por lo que debe comenzarse por soluciones al 1 por 500 para terminar, al cabo de cuatro ó cinco semanas, y después de renovar el líquido varias veces, por soluciones al 1 por 100.

Tiene este reactivo la desventaja de rebajar notablemente la afinidad que, para con determinadas substancias colorantes, posee la cromatina nuclear.

El ácido ósmico, el bicloruro de mercurio, el cloruro de paladio, el bicloruro de platino, gozan asimismo de propiedades indurantes.

Formol.—Hoyer, During, Lachi, Dell Isola, etc., han recomendado para la induración de tejidos, y particularmente del nervioso, una solución acuosa de formol ó formalina al 10 por 100. Tiene el formol la excelencia de endurecer bien y de no mermar la afinidad de los núcleos para las materias tintóreas.

Acetona. — Se emplea pura como el alcohol, indurando más rápidamente que éste. A las doce horas las piezas están suficientemente consistentes para poder ser seccionadas en microtomo, sin inclusión previa. La acetona conserva íntegras las afinidades colorantes de las células.

Mezcla de acetona y formol á partes iguales. — Es indurante y fijador poderoso. El endurecimiento, previo lavado para arrastrar el formol, se acaba en acetona pura ó en alcohol.

FIJADORES

Así se designan los agentes que fijan y conservan la forma y estructura de las células vivas. Los reactivos más usados de este grupo son: el ácido ósmico, el alcohol absoluto, el bicloruro de mercurio, la mezcla de Flemming, etc.

Acido ósmico al 1 por 100. — En este líquido deben permanecer las piezas, según su espesor, desde algunos minutos á varias horas. Los elementos más alterables, tales como los glóbulos sanguíneos y tubos nerviosos, conservan fielmente su forma una vez tratados en vivo por dicho reactivo.

Reactivo de Kleinenberg. — Solución acuosa concentrada de

Acido pícrico	100
— sulfúrico	2

Para usar este líquido conviene diluirlo en dos ó tres veces su peso de agua.

Licor de Flemming.

Agua destilada	100
Acido crómico	0'25
— ósmico	0'1
— acético	0'1

Mezcla de Fol. — Es un líquido de Flemming más débil, y en ocasiones más conveniente, por cuanto respeta mejor las afinidades tintóreas de las células.

Acido crómico al 1 por 100	25
— ósmico al 1 por 100	2
— acético al 2 por 100	5
Agua	68

En la mezcla de Flemming y de Fol permanecerán las piezas de dos á veinticuatro horas, según el volumen; luego se lavarán en agua, y se concluirán por indurarlas en alcohol. Estos fijadores son excelentes para el estudio de la kariokinesis.

Bicloruro de mercurio. — Se usa disuelto á saturación en agua destilada. Las piezas frescas se abandonan en el reactivo durante veinticuatro horas; después se lavan en mucha agua y se llevan al alcohol, desde el cual pueden pasar á la celoidina ó parafina, á menos que no se quiera teñir en masa antes de la inclusión. Este reactivo es también indurante. Fija bien las figuras kariokinéticas.

Si se desea preparar una solución estable de sublimado y evitar precipitados en las piezas, se usará el líquido siguiente:

Sublimado	7'5
Cloruro de sodio	0'50
Agua destilada	200

Licor de Perény.

Acido nítrico al 10 por 100	40 cent. cúbs.
Alcohol absoluto	30 — —
Acido crómico al 0'5 por 100	30 — —

Este baño fija los objetos pequeños en cinco ó seis minutos. Prolongando la acción de doce á veinticuatro horas, se obtiene además una induración bastante notable, que puede exagerarse todavía en el alcohol. Una vez extraído el objeto del fijador, se sumerge en alcohol al 70 por 100 (por veinticuatro horas), luego en alcohol al 90 por 100 y, por último, en alcohol absoluto.

La coloración puede hacerse en los carmines, hematoxilinas, anilinas, etc.

Se ha recomendado el líquido de Perény para el estudio de las células y fibras nerviosas, que fija perfectamente.

Acido cromo-fórmico (Rabl).

Acido crómico al 3 por 100	200
— fórmico concentrado	5

Debe actuar sobre las partes cuyos núcleos deseemos impregnar, de doce á veinticuatró horas. Antes de proceder á la colo-

ración, para la que se preferirá la hematoxilina ó safranina, se lavarán por algunas horas las piezas en agua destilada y se indurarán en alcoholes de progresiva concentración.

Alcohol acético (Carnoy, van Beneden).

Alcohol absoluto	300
Acido acético	100

Aconséjase este licor para fijar el ovario del *ascaris megalocephala*. Tiempo de acción, de diez á quince minutos. Induración subsiguiente en alcohol absoluto.

Mezcla cromo-formólica (During, etc.).

Bicromato de potasa	3
Agua	100
Formalina	3

Sirve para indurar y fijar rápidamente el tejido nervioso.

Fijador de Bouin:

Formol	10 cent. cúbs.
Solución acuosa saturada de ácido pícrico	30 — —
Acido acético cristalizable	2 — —

Al cabo de veinticuatro horas la fijación es completa; después, llévanse las piezas al agua corriente durante una ó dos horas y la induración se hace en alcohol.

Solución de Tellyemiczky:

Solución de bicromato al 3 por 100	100
Acido acético	5

Líquido de Foa:

Líquido de Müller	100 cent. cúbs.
Sublimado	2 gramos.

Acido tricloracético. — Se usa al 5 por 100, actuando de doce á veinticuatro horas.

REACTIVOS ACLARADORES Y OPACANTES

Reactivos *aclaradores* son los que obran borrando ó moderando el contraste de los índices de refracción de las partes constitutivas de los tejidos. Cuanto más diferencia de índice exista entre las células y el medio orgánico en que yacen, más obscuras aparecerán las preparaciones y más difícil resultará la apreciación de los elementos residentes en el espesor de éstas.

Las materias capaces de atenuar dichos contrastes, y que, por ende, prestan á los cortes histológicos una gran transparencia, son las esencias (esencia de clavos, la de bergamota, la de orégano, el xilol, la creosota, etc.) y las soluciones de bálsamo del Canadá ó de resina damar en xilol.

Reactivos *opacantes* son los que, por gozar de un índice de refracción muy bajo, obran en sentido contrario, es decir, obscureciendo el contorno de las células y robando transparencia á la preparación. Este efecto, que en los cortes suele ser dañoso, resulta muy beneficioso cuando se examinan células sueltas, ténues filamentos libres, diatómeas, en fin, todas aquellas partes cuyas superficies exhiben rayas ó expansiones de gran delicadeza. Entre los agentes opacantes deben contarse: el aire, el alcohol, el éter y el agua común.

Las materias de un índice muy elevado, mucho más alto que el de los tejidos, tales como el *stirax,* el *liquidambar,* el *yoduro de metilo,* poseen también acción opacante, puesto que prestan á la preparación, aunque en sentido opuesto, el mismo contraste engendrado por los líquidos de bajo índice. El *stirax* es, sobre todo, muy usado por los diatomistas, á fin de dar realce á las finas rayas de la *amphipleura pellucida* y de la *pleurosigma angulatum.*

REACTIVOS AISLADORES

Son los que, atacando las materias intercelulares, dejan en libertad las células, ó facilitan, por lo menos, las maniobras de la disociación mecánica.

Alcohol al tercio, es decir, dos partes de agua por una de alcohol de 36°. Este reactivo, que fué preconizado por Ranvier, aisla fácilmente, mediante una maceración de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, las células de los epitelios cilíndricos y pavimentosos, así como las fibras musculares lisas.

Ácido nítrico al 25 por 100. — Si se macera en este licor, por uno á tres días, tejido de fibra lisa ó el músculo cardíaco, se logra disociar cómodamente las fibras musculares.

El *ácido sulfúrico* concentrado sirve para disociar las células epiteliales córneas, y diluído al 5 por 100, aisla fácilmente los prismas del cristalino.

El *bicromato de potasa,* diluído al 1 por 300, es de gran provecho para lograr el aislamiento de las células neuróglicas y nerviosas de la médula espinal. El tiempo de acción debe prolongarse de dos á cinco días.

ABLANDANTES Ó ALTERANTES

Se usan para rebajar la consistencia de substancias excesivamente duras, como el hueso y el cartílago en vías de osificación. Los ablandantes más generalmente usados son: el ácido crómico, el pícrico, el nítrico, el hidroclórico, todos en soluciones más ó menos diluídas, excepto el pícrico, que se aplica á saturación.

He aquí algunas fórmulas:

Líquido de Fol:

Acido crómico al 1 por 100	70
— nítrico	3
Agua	200

Líquido de Waldeyer:

Cloruro de paladio	0'01
Acido clorhídrico al 1 por 100	1.000

Líquido de Ebner:

Acido clorhídrico	2'5
Alcohol	500
Cloruro sódico	2'5
Agua destilada	100

Líquido de Haug á la floroglucina:

Floroglucina	1
Acido nítrico	10

Caliéntese hasta disolución y añádase:

Agua destilada	100

Observaciones. — La cantidad de líquido con relación á las piezas debe ser considerable, para que la decalcificación sea rápida.

Antes de decalcificar toda pieza deberá ser fijada y endurecida en alcohol ó líquido de Müller.

Extraídas las piezas del líquido decalcificante se lavarán, por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, en agua destilada; después volverán al alcohol, donde se deshidratarán, esperando la inclusión definitiva.

La mejor materia de inclusión es la celoidina; la parafina producirá excesiva consistencia. Los cortes se teñirán con safranina, carmines, hematoxilina, etc.

CAPÍTULO VIII

CONTINUACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivos colorantes selectivos. — Reactivos impregnadores. — Reactivos inofensivos y conservadores.

Reactivos colorantes. — Son aquellos que, fijándose con matices más ó menos intensos en determinadas partes de los tejidos, permiten distinguir detalles estructurales invisibles ó apenas apreciables con el uso exclusivo del microscopio.

Los reactivos colorantes deben clasificarse en dos grupos: 1.°, agentes que tiñen selectivamente sin experimentar descomposición apreciable; 2.°, agentes electivos que coloran descomponiéndose. Estos últimos desígnanse también *reactivos impregnadores*.

Reactivos colorantes selectivos. — Son numerosísimos, pero los principalmente usados son: el carmín y picrocarminato, la hematoxilina y los colores de anilina.

Carmín. — Introducido en la técnica por Gerlach, es hoy uno de los reactivos de más boga. El carmín es insoluble en agua, en alcohol, éter, glicerina, etc., pero se disuelve en el amoníaco, en los carbonatos alcalinos, en el ácido hidroclórico, en las soluciones concentradas de alumbre, etc.

La especialidad del carmín consiste en teñir el núcleo de las células, y con menor energía los fascículos del tejido conectivo y cilindros-ejes de los tubos nerviosos.

Antiguamente se utilizaban mucho las soluciones amoniacales; pero hoy se sabe que el carmín alcalino ataca más ó menos la cromatina nuclear, imposibilitando el estudio de las figuras mitósicas ó kariokinéticas. Por este motivo se prefieren los carmines aluminosos, que tiñen sin alteración dicha substancia.

Las fórmulas de carmín son muy numerosas. Nosotros daremos aquí las que gozan de más crédito.

Picrocarminato amoniacal.—Es una mezcla de carmín y ácido pícrico, propuesta por Ranvier para lograr coloraciones dobles de los tejidos. El carmín colora los núcleos en rojo, y el ácido pícrico tiñe en amarillo las células córneas y fibras elásticas.

La preparación de este importante reactivo es algo difícil, y sus resultados varían mucho, según la fórmula empleada.

He aquí la de Löwenthal, que pasa por una de las mejores:

Sosa cáustica	0'5
Carmín laca	0'4
Agua destilada	100

Después de una decocción de quince minutos, dilúyese en 200 de agua y se añade sucesivamente una solución de ácido pícrico al 1 por 100 hasta que cese de disolverse el precipitado que se forma. El líquido debe filtrarse dos ó tres veces, y estará listo para usarse.

Carmín de Grenacher:

Carmín	2
Solución de alumbre al 5 por 100	100

Se filtra después de una hora de ebullición. En este líquido permanecerán los cortes de una á veinticuatro horas, sin temor á la sobrecoloración. El carmín (que adquiere un matiz purpúreo) se fija de preferencia en la cromatina nuclear y figuras mitósicas ó kariokinéticas.

Cochinilla de Czokor.—En vez del carmín del comercio cabe utilizar la cochinilla de donde se extrae. La fórmula de Czokor da buenos resultados; colora la cromatina nuclear de violado purpúreo.

Cochinilla en polvo	7
Alumbre calcinado	7
Agua	700

Hiérvase hasta reducción á la mitad, fíltrese y aplíquese como la fórmula precedente.

Carmín lítico de Orth. — Las soluciones alcalinas de carmín poseen poca ó ninguna selección; mas cuando un preparado, teñido difusamente en un carmín alcalino, se trata por una solución alcohólica de ácido hidroclórico, el exceso de color se disuelve y se opera una fuerte selección en los núcleos.

La *solución de Orth* es la siguiente:

Carmín laca.....	2'5
Solución saturada de carbonato de litina.....	100

Los cortes, que permanecerán aquí algunos minutos, son lavados de medio á un minuto en una solución alcohólica de ácido clorhídrico (al 1 por 100), y luego en agua destilada.

Hematoxilina.—Es una substancia colorante amarillenta, poco soluble en agua, más en alcohol y en los líquidos aluminosos, que se extrae del palo campeche. Se prefieren generalmente las soluciones de hematoxilina en agua aluminosa, adicionada de cierta cantidad de alcohol. Este reactivo tiñe de color violado azul la cromatina nuclear, la materia birefrigerante de los músculos y la mucina de las células caliciformes.

Pocas substancias colorantes poseen la energía tintórea de la hematoxilina, la cual colora hasta los tejidos que han permanecido mucho tiempo en el ácido crómico y mezclas cromo-ósmicas; pero, en cambio, sus soluciones son muy inestables, no gozando de la virtud selectiva citada sino durante cierto período (llamado de *madurez del reactivo),* que comienza una ó dos semanas después de preparado el color, y se prolonga, á lo sumo, por espacio de dos ó tres meses.

Investigaciones modernas tienden á referir la inestabilidad de la hematoxilina á una oxidación de esta materia en presencia del aire (1). Para Mayer, de Nápoles, la substancia activa aparecida en la época de madurez, sería un *compuesto amoniacal de hemateína.* Sus ensayos le han conducido á preparar ya madura la solución de hematoxilina.

(1) Así, Hansen ha acelerado la maturación añadiendo á 200 cent. cúb. de solución de hematoxilina recién preparada, cierta cantidad de permanganato potásico é hirviendo el líquido hasta formarse precipitado.

La *hemateína amoniacal,* así llamada por Mayer, se obtiene disolviendo en caliente 1 gramo de hematoxilina en 20 de agua destilada, y adicionando un cent. cúb. de amoníaco (peso específico, 0'875). Evaporado el líquido, la masa resultante será la *hemateína amoniacal* (1), que disuelta en alcohol (1 por 50) y adicionada de solución acuosa de alumbre (5 por 100), dará el líquido colorante.

He aquí algunas fórmulas muy usadas de la hematoxilina.

Hematoxilina Böhmer: Puede prepararse de una vez juntando:

1 líquido.....	Hematoxilina.....	1
	Alcohol.....	12
2 líquido.....	Alumbre.....	1
	Agua.....	320

Si se prefiere preparar pequeñas cantidades, procederemos de este modo: A un vidrio de reloj, lleno del segundo líquido, se añaden 2 ó 3 gotas del primero. Debe esperarse lo menos ocho días hasta que el líquido tome color azul. Las soluciones rojas antiguas no sirven.

Hematoxilina de Ehrlich:

Hematoxilina.....	2
Alcohol absoluto.....	100
Glicerina.....	100
Agua.....	100
Alumbre.....	en exceso.

Se abandona á la luz hasta que tome color rojo. Entonces resulta bastante estable y tiñe bien los núcleos. Se conserva madura más tiempo que la fórmula de Böhmer.

Al tratar del sistema nervioso daremos otros métodos á base de hematoxilina. Ciertas fórmulas, como la de la hematoxilina al hierro, de Heidenhain, serán descritas con ocasión de la coloración de los cortes de la celoidina.

(1) La hemateína amoniacal, susceptible de ser disuelta en solución de alumbre, se expende corrientemente en las casas de artículos de micrografía, en la de Grübler de Leipzig, por ejemplo.

Acido pícrico. — Se emplea en solución al 1 por 100. Tiñe de amarillo las fibras elásticas y los tejidos epiteliales, singularmente el epidermis córneo, para el que tiene una afinidad muy viva.

El ácido picrico, en solución saturada, es también un buen fijador de las células glandulares, según Heidenhain.

Eosina.—Conocida en el comercio bajo el nombre de *primerosa,* es una sal de potasa y de una ptaleína bromada, introducida en la técnica histológica por Renaut. Se usa disuelta al 1 por 100 ó por 200. Esta substancia tiñe en rosa el protoplasma de las células, los fascículos del tejido conectivo y, sobre todo, los glóbulos rojos. Se emplea asociada á la hematoxilina para lograr dobles coloraciones muy instructivas.

Azul de metileno y demás anilinas. — Todas las anilinas básicas, tales como el *azul de metileno,* la *fuchsina,* el *violado de dalia,* el *violeta de genciana,* la *safranina,* la *vesubina,* el *violado de anilina,* etc., tiñen fácilmente los núcleos, aplicadas, ora en soluciones acuosas débiles adicionadas de unas gotas de ácido acético, ora en soluciones muy concentradas acuoso-alcohólicas.

Las *soluciones acetificadas* tiñen directamente y en pocos minutos la cromatina nuclear de los elementos frescos; mas las *soluciones acuoso-alcohólicas* exigen, para obtener iguales resultados, una operación subsiguiente, á saber: la decoloración del preparado, ya con el alcohol, ya con la esencia de clavo, ya con los ácidos minerales diluídos, agentes que roban el color de todas las partes, menos de los núcleos y de ciertas substancias fundamentales. Con las anilinas usadas de esta suerte (método de Hermann-Böttcher), se consiguen coloraciones tan bellas ó más que las obtenidas con el carmín ó hematoxilina. Más adelante insistiremos sobre este particular.

Substancias impregnadoras. — Ya dijimos más atrás que ciertos agentes, como el ácido ósmico y algunas sales metálicas, poseían la propiedad de teñir selectivamente, pero á condición de sufrir, en presencia del tejido, una descomposición. Las substancias que obran de esta suerte son: el ácido ósmico, el nitrato de plata, el cloruro de oro y el bicromato de potasa puesto en presencia de algunas sales de plata ó de mercurio. El precipitado impregnador fórmase unas veces por *reducción,* afectando estado

coloidal (impregnación argéntica, áurea, etc.), y otras por *doble descomposición,* en presencia del mordiente que embebe el tejido (cromato de plata sobre piezas empapadas en bicromato potásico).

Acido ósmico. — Es una substancia verdosa, cristalina, sumamente volátil, de que E. Schültze se sirvió primeramente en los trabajos micrográficos. Se usa en soluciones acuosas al 1 por 100 aplicadas en fresco. Este reactivo, como ya expusimos anteriormente, es un excelente fijador, pero su virtud más valiosa consiste en teñir de negro la grasa y la mielina de los tubos nerviosos.

Semejante efecto depende de una reducción del reactivo en presencia de las grasas neutras.

Nitrato de plata. — Se usa en soluciones flojas, generalmente al 1 por 300. Su especialidad de acción consiste en colorar en negro pardo los cementos que juntan los epitelios, así como la substancia fundamental del cartílago y tejido conjuntivo. Esta acción no es directa; necesítase del concurso de la luz, bajo cuya influencia el cloruro y albuminato argénticos formados en el seno de los cementos, son reducidos bajo la forma de plata coloidal de color café obscuro ó rojo pardo.

Es condición precisa que los tejidos destinados á la impregnación sean frescos; generalmente se prefieren las membranas serosas, la córnea y todas aquellas partes que por su delgadez son transparentes.

El *modus operandi* se reduce á lo siguiente: Comiénzase por poner al descubierto la membrana que se desea impregnar, y, á ser posible, se traslada íntegra al porta-objetos; en seguida se irriga durante algunos segundos con la solución argéntica; lávase rápidamente para eliminar los precipitados irregulares y el exceso de reactivo, y, bajo una gota de glicerina, se expone al sol, hasta que los tejidos adquieran color amarillo-pardo. La conservación se verificará en bálsamo ó glicerina.

Nitrato de plata reducido. — Cuando trozos de tejido nervioso de poco espesor se mantienen en estufa durante tres á seis días, sumergidos en una solución de nitrato de plata al 1'50 por 100, y se someten después por veinticuatro horas á la influencia de

un reductor (hidroquinona ó ácido pirogálico), la sal metálica, así como las combinaciones argentico-orgánicas formadas, se reducen, coloreando de negro, café ó de rojo chocolate las neurofibrillas del protoplasma nervioso, así como el nucleolo. Si, antes de la acción del nitrato, se fijan las piezas nerviosas en alcohol solo ó adicionado de algunas gotas de amoníaco, la impregnación, además de las neurofibrillas, escoge preferentemente los cilindros-ejes.

Las diversas fórmulas de este método, señalado por nosotros (1) y empleado con éxito en la coloración del retículo nervioso por muchos autores, se expondrán detalladamente más adelante al tratar de la preparación del tejido nervioso.

Cloruro de oro. — Esta substancia se emplea en solución al 1 por 100. Su especialidad de acción consiste en reducirse, bajo la forma de polvo de oro finísimo y de matiz violado ó rojizo, en la mielina y terminación de los cilindros-ejes. Como el nitrato de plata, el cloruro de oro exige también la colaboración de un reductor, que puede ser la luz y mejor todavía un ácido orgánico. También las materias grasas y protéicas de las células reducen las sales áuricas.

Muchas son las fórmulas del cloruro de oro ideadas por los autores para el fácil logro de la coloración de las terminaciones nerviosas. Nosotros indicaremos solamente la más constante.

Procedimiento de Loewit. — Primeramente se hace actuar sobre el tejido (que debe ser fresco), y durante un minuto, una solución de ácido fórmico al tercio; en seguida se abandona el preparado por un cuarto de hora en cloruro de oro al 1 por 100, y, en último término, se lleva la pieza al ácido fórmico puro (ó diluído á la mitad), en donde permanecerá veinticuatro horas. Al cabo de este tiempo, el preparado aparecerá teñido en la superficie de violado-negro, en el centro de amarillo y en las zonas intermedias de rojo-violado claro. Este territorio de transición es el que exhibe las mejores terminaciones nerviosas.

De otras fórmulas en que entra el cloruro áurico trataremos con ocasión del tejido nervioso.

(1) *S. R. Cajal:* Un sencillo método de coloración selectiva del retículo nervioso. *(Trab. del Lab. de Invest. biol.,* 1903).

Cromato de plata. — Cuando se somete á la acción del nitrato de plata un trozo de centro nervioso ó de tejido con nervios, previamente indurado en bicromato de potasa, prodúcese en el espesor de la trama, y sobre ciertos elementos solamente, un precipitado rojo-ladrillo opaco, que permite seguir fácilmente las fibrillas nerviosas y las expansiones de las células.

Esta singular reacción fué descubierta por Golgi, y ha sido aprovechada ventajosamente en el estudio de la estructura de la retina, mucosa olfatoria, ganglios, médula, cerebro, cerebelo, por numerosos investigadores (Golgi, L. Sala, Fusari, Martinotti, Tartuferi, los hermanos Cajal, Cl. Sala, Kölliker, Lenhossék, van Gehuchten, Retzius, Falcone, Schaffer, Calleja, etc.

He aquí el método de Golgi, tal como nosotros lo practicamos:

Método rápido de Golgi modificado:

1.° Induración de trozos pequeños (1/3 de centímetro cuadrado á lo más) durante uno á tres días en:

Bicromato de potasa al 3 por 100.....	20
Acido ósmico al 1 por 100.....	6

2.° Lavado rápido (dos á cuatro segundos) en agua destilada.

3.° Inmersión por treinta horas en solución de nitrato de plata cristalizado al 0'75 por 100.

4.° Induración por media hora en alcohol de 40°.

5.° Montaje superficial en un bloque de parafina ó entre dos trozos de médula de saúco, para efectuar las secciones microtómicas, que deberán ser espesas.

6.° Lavado de los cortes, que deben recogerse en alcohol de 40° ó en alcohol absoluto, que se mudará seis ú ocho veces durante media hora.

7.° Aclaramiento, por dos á cinco minutos, en la esencia de clavos.

8.° Traslación rápida al porta-objetos, donde se irrigarán con xilol (por algunos segundos) para quitar la esencia de clavos.

9.° Lubrificación de los cortes con bálsamo ó resina damar, disueltos en xilol.

10. Desecación subsiguiente de los cortes al descubierto, á fin de que el barniz se endurezca hasta lo hondo del tejido y las células queden como incrustadas en cristal. La lenta desecación del barniz, así como un montaje á la manera ordinaria, estropean la coloración.

Este método de coloración produce excelentes preparados en la médula embrionaria, cerebro y cerebelo de los mamíferos, en la retina, bulbo olfatorio, terminaciones nerviosas periféricas, gran simpático adulto, conductos glandulares, etc. Tiñe de negro las células y particularmente los cilindros-ejes.

Cuando después de la impregnación en nitrato de plata, el preparado nos mostrase poca ó ninguna reacción, volverán á someterse las piezas (recién sacadas del nitrato) á los mismos baños, á saber: solución osmio-bicrómica por veinticuatro horas, y nitrato de plata por treinta y seis. Este método, que nosotros hemos llamado de *doble impregnación,* es mucho más constante que el ordinario, y nos ha permitido (así como á Retzius, van Gehuchten, Cl. Sala, P. Ramón, Lenhossék, etc.) colorar fibras y células nerviosas, que se resisten á los otros modos de empleo de la reacción negra.

Impregnación con las sales de mercurio. — Golgi, en sus fecundas exploraciones técnicas sobre el sistema nervioso, descubrió que si una pieza indurada en bicromato potásico se trata durante algunas semanas por el bicloruro de mercurio, ciertas células y fibras nerviosas aparecen impregnadas por un precipitado metálico, blanco á la luz refleja y obscuro á la luz transmitida. El método de Golgi al mercurio ha sido modificado ventajosamente por Cox, cuyo procedimiento no damos aquí. De él trataremos en la técnica del tejido nervioso.

REACTIVOS INOFENSIVOS

Los *reactivos inofensivos* son líquidos que, por alterar poco ó nada la forma y vitalidad de los elementos anatómicos, se aprovechan para conservar, durante el examen en vivo, los humores y tejidos.

Uno de los líquidos inofensivos más usados es la solución salina siguiente:

Cloruro de sodio	0'75
Agua destilada	100

Añadiendo á este licor cierta cantidad de violeta de metilo, se obtiene el líquido conservador *sodico-metílico* de Bizozzero, utilísimo para el examen algo prolongado de las plaquetas de la sangre.

Para efectuar cultivos histológicos, pueden usarse también con ventaja, según han probado las investigaciones de Burrows, Lewis, etc., los líquidos de Ringer y de Locke.

Líquido de Ringer:

Agua	100 cent. cúb.
Cloruro de sodio	0'9 gramos.
— de calcio	0'02 —
— de potasio	0'02 —
Bicarbonato de sosa	0'01 á 0'02 —

Líquido de Locke:

Agua	100 cent. cúb.
Cloruro de sodio	0'9 gramos.
— de calcio	0'024 —
— de potasio	0'042 —
Bicarbonato de sosa	0'01 —

El *humor ácueo,* extraído ya de la rana, ya del conejo, es también un buen vehículo para conservar durante la observación los movimientos amiboides de los leucocitos y el vibrátil de los epitelios. Pero el vehículo más ventajoso es, sin disputa, el plasma de la sangre no coagulado y conservado en hielo y con precauciones asépticas. Para prepararlo, aconsejan Harrison y Burrows recibir la sangre de un animal vivo ó recién muerto en un tubo interiormente parafinado (á fin de evitar la coagulación), que se lleva al aparato centrifugador, al objeto de descartar los hematíes. Una inyección de peptona en las venas del perro im-

pide también en éste la coagulación de la sangre, pudiéndose, por tanto, obtener directamente plasma nutritivo. Para efectuar un cultivo histológico, se escogerá, naturalmente, el plasma del animal á que pertenezcan las células, que se mantendrá en estufa y cámara húmeda por algunos días.

Los demás reactivos inofensivos, á saber: la *solución salina de Hayem,* el *suero artificial de Schültz,* el de *Kronecher,* etc., se aplican en ciertos casos solamente, y no son tan provechosos como los arriba citados para el examen en vida.

REACTIVOS CONSERVADORES

Son *reactivos conservadores,* no los ofensivos, sino los que, además de poner los tejidos al abrigo de la putrefacción, conservan el color y demás cambios provocados en las preparaciones por las diversas maniobras de fijado y coloración.

El modo de acción de estos reactivos consiste, unas veces, en robar agua al preparado, imposibilitando así toda vegetación de bacterias (alcohol, glicerina), y otras en sustituir el agua de imbibición por materias resinosas imputrescibles, como el bálsamo del Canadá, la resina damar, el *stirax,* etc.

Glicerina.—Debe ser anhidra y perfectamente neutra, para evitar la alteración que, en presencia de ácidos ó álcalis, experimentan ciertos colores. Esta substancia conserva bastante bien los tejidos, á quienes presta regular transparencia; pero tiene el inconveniente de retraer algo los fascículos conjuntivos y de alterar á la larga la coloración de las células.

Bálsamo del Canadá.—Se aplica, generalmente, disuelto en xilol, de modo que se obtenga una masa de consistencia de jarabe espeso. El montaje en bálsamo de los cortes exige, como condición precisa, la deshidratación (en alcohol) y el aclaramiento. (Véase más adelante: *Conservación de las preparaciones).*

Resina damar.—Se aplica, como en el bálsamo, la solución en xilol de la resina seca y pulverulenta; su empleo reclama también la previa deshidratación de los cortes.

Licor de Farrant:

Goma arábiga	100
Agua	100
Glicerina	2

Añádase para conservar este líquido un cristal de timol.

Se aplica, como la glicerina, sobre objetos no deshidratados. La ventaja principal de este menstruo estriba en que no exige cementación definitiva, pues la parte que rebosa del cubre-objetos se endurece progresivamente, constituyendo una costra protectora.

Los demás líquidos conservadores, á saber: el de Goadby (sal, alumbre y sublimado), el de Pacini (sublimado, sal y glicerina), la glicerina gelatinada, etc., se emplean raras veces porque, además de la escasa transparencia que dan á los objetos, respetan poco los colores, y el menor deterioro del cemento que rodea el cubre-objetos ocasiona la desecación del preparado.

CAPÍTULO IX

C. — *Métodos histológicos.*

Clasificación de los métodos. — Método del examen en vida. — Método aislador. Método de los cortes. — Procederes de coloración. — Método de las inyecciones.

Llámase *método histológico* al conjunto de operaciones destinadas á demostrar tal ó cual disposición estructural de los tejidos. Comprende cada método una porción de actos técnicos que conspiran al mismo fin; así, por ejemplo, la demostración de la textura del núcleo exige la ejecución de estas operaciones: fijado del objeto, induración, sección, coloración, etc.

Si cada particularidad de estructura de los tejidos requiere el empleo de uno ó de varios métodos analíticos, está claro que deben ser éstos muy numerosos. Su exposición circunstanciada reclamaría una extensión de que no disponemos; por lo cual, nosotros nos ceñiremos á explicar los métodos de indagación aplicables á todos ó á varios tejidos. Los métodos analíticos más generales pueden reducirse á cuatro: *el examen en vivo; la disociación,* que presenta las células aisladas; *el método de los cortes coloreados* que revela las células en sus relaciones y actitudes naturales, y *el método de las inyecciones,* que consiente, mediante el relleno de las cavidades orgánicas, la percepción del contorno de éstas. Las *operaciones de coloración* podrían en rigor considerarse como métodos generales, pero nos parece más práctico englobarlas en el método de los cortes, del cual representan el obligado complemento; lo que no excluye el uso de la coloración en las células disociadas y aun en las vivas ó casi vivas, como luego veremos.

EXAMEN EN VIVO

El examen de los elementos vivos puede efectuarse, bien en líquidos orgánicos, bien en tejidos disociables, ora en membranas transparentes del animal íntegro, ora, en fin, en plasma extraído del cuerpo del animal y aprovechado para la conservación y cultivo celulares.

Líquidos orgánicos. — La observación de los humores vivos, tales como la sangre, la linfa, el esperma, etc., es de las más sencillas. En el centro de una cámara húmeda porta-objetos se deposita la gota del líquido que se desea examinar; cúbrese rápidamente el preparado con una laminilla que, para evitar la intrusión de microbios, se cementará con parafina. Si el líquido pertenece á un animal de sangre fría, bastará el empleo de la cámara húmeda; mas si procede de un animal de sangre caliente, la observación se hará en la cámara de Pfeiffer ú otro aparato análogo.

Examen de los tejidos íntegros ó disociados. — La córnea de la rana, trozos de tejido conectivo separados mediante las tijeras curvas, las fibras musculares frescas de las patas del hidrófilo, pedazos del epitelio vibrátil del esófago de los batracios, etc., podrán conservarse vivos en cámara húmeda y por varias horas. El vehículo preferible será, para los elementos de la rana, el plasma sanguíneo del mismo animal, y para los del *hidrophilus piceus, ditiscus marginalis,* etc., la linfa que de estos coleópteros rezuma cuando se les arranca una pata ó la cabeza. En general, y para evitar la muerte rápida de los elementos, la disociación preliminar al examen será muy ligera; se impedirá también que el cubre-objetos oprima demasiado la preparación.

Examen de los órganos transparentes. — El mesenterio, el pulmón y la lengua de la rana, las expansiones membranosas de la cola del renacuajo y de la larva del sapo, el mesenterio del conejillo de Indias de pocos días, etc., constituyen órganos adecuados á la observación microscópica de algunos tejidos vivos, tales como los nervios, los vasos, la sangre y linfa, el tejido conectivo, los epitelios, etc.

Examen en el renacuajo. — Prefiérense larvas de pequeño tamaño, porque pueden acomodarse fácilmente encima de un porta-objetos. Para inmovilizar el animal, se añaden al agua en que nada unas gotas de una solución de curare al 1 por 100. Mientras el renacuajo tiene el epitelio íntegro, no se absorbe el veneno; pero en cuanto se pica la piel, el curare penetra y el animal queda inmóvil, aunque no muerto, pues el corazón continúa latiendo y la circulación se mantiene. Al objeto de evitar la desecación, se mojará de cuando en cuando la piel, y se cubrirán las expansiones de la cola con una laminilla.

Mesenterio de la rana. — El mesenterio se presta admirablemente, por su gran transparencia y delgadez, al estudio de los vasos y sangre, así como al examen de los corpúsculos del tejido conectivo.

La rana se inmovilizará también con el curare, de cuya solución al 1 por 100 se inyectarán bajo la piel, en el saco linfático dorsal, algunas gotas. A los diez minutos, la absorción es suficiente para paralizar los movimientos voluntarios. Acto continuo, y previa una sección lateral del abdomen, se extrae un asa intestinal (porción superior del intestino), provista de un repliegue mesentérico dilatado. A prevención, tendremos preparado un cristal pequeño (el tamaño 9 por 12 centímetros, llamado cuarto de placa por los fotógrafos, es excelente), en cuyo centro se pega con parafina un cilindro de corcho, cuyo diámetro concuerde con el del asa intestinal, y cuya altura guarde proporción con el espesor de la rana. En el contorno superior del corcho se labrará exteriormente una muesca, en donde, á favor de finos y cortos alfileres, deberá fijarse el intestino. La observación se efectúa á flojos aumentos (A ó C de Zeiss), si se desea apreciar la circulación en un territorio algo extenso; la percepción de finos detalles reclama un objetivo fuerte (E de Zeiss, por ejemplo), y la protección del mesenterio mediante un pequeño cristal circular. Finalmente, se cuidará de mantener la respiración cutánea de la rana, mojando la piel cada cinco ó diez minutos; esto evita también la desecación del mesenterio.

El examen de la membrana interdigital se hará fácilmente, inmovilizando la rana sobre un corcho plano y extenso, en el

cual habrá un agujero que se cubrirá con las expansiones interdigitales de la pata extendida. La extensión de los dedos se mantendrá á favor de hilos, fijos por uno de sus extremos en las últimas falanges, y atados por el otro en los agujeros del corcho.

Aunque con menos comodidad, cabe también examinar la circulación en el mesenterio del conejillo de Indias. El ratón, la rata y el gato son menos á propósito, á causa de las espesas formaciones adiposas que recubren los vasos peritoneales. En cuanto á la inmovilización, se efectuará inyectando en el peritoneo cierta cantidad de hidrato de cloral; 2 ó 3 gramos de solución acuosa al 5 por 100 bastan para narcotizar, por algunas horas, un conejo de Indias de pequeña talla.

Cultivos celulares.—El viejo método de mantener por varias horas ó días vivos los leucocitos de la rana en el plasma normal del mismo animal, se ha aplicado en grande escala en estos últimos años por Harrison, Lewis, Carrel, Burrows, al cultivo de las demás células de tejido, en muchas de las cuales se han provocado interesantes proliferaciones y colonias extraorgánicas. El modo de preparar el plasma ó terreno de cultivo varía para cada autor. Más atrás dejamos expuesto el método que propone Burrows, y cuyos buenos resultados ha comprobado Marinesco (1913).

Reducido el tejido vivo á fragmentos de uno ó dos milímetros, lávanse rápidamente con el líquido de Ringer esterilizado, y móntanse después en cubre-objetos, bañándolos en una gota de plasma incoagulable. La laminilla portadora del tejido colócase, con la gota del vehículo conservador hacia abajo, sobre un porta-objetos excavado, cuyo fondo habrá sido humedecido con el líquido de Ringer. En fin, parafinados los bordes de la laminilla, llévase el todo á la estufa á 37°. Cada veinticuatro ó cuarenta y ocho horas convendrá renovar el plasma del cultivo, lavando los trozos histológicos (si hubiere colonias microbianas incipientes) con líquido de Ringer ó de Locke. De esta suerte cabe asistir durante muchos días á la proliferación de las células epiteliales ó conectivas, formación de ramificaciones en los axones embrionarios, con la consiguiente producción de membranas y centros ó pléyades de vegetación irradiada.

Coloraciones vitales.—Como complemento del examen en vivo, deben considerarse las coloraciones vitales ó post-vitales, sin previa fijación.

La coloración en vivo, mediante las anilinas básicas, de las fibras nerviosas, fué descubierta por Ehrlich en 1886. Más adelante (1887) halló O. Schultze que el azul de metileno es susceptible de colorear también muchas granulaciones intraprotoplásmicas. En fin, el mismo Ehrlich propuso en 1894 el rojo neutro como el color por excelencia para la coloración vital de los gránulos de muchos elementos.

Coloración de las granulaciones intraprotoplásmicas.—Lógrase de preferencia con el *rojo neutro,* pero puede conseguirse también con otros colores, tales como la *tionina,* la *dimetiltionina,* el *violeta de metileno,* el *azul de metilo,* el *violeta neutro,* etc. En casos especiales, úsase el *Nilblau-sulfat,* el *violeta de metilo,* la *safranina* y el *azul de toluidina.*

Nótese que todos los colores capaces de teñir en vivo pertenecen á la categoría de las anilinas básicas y muchos de ellos al llamado *grupo colorante de Lauth* (azul de metileno, tionina, etcétera).

De ordinario empléanse estos colores en soluciones muy diluídas (de 1 por 250 á 300, hasta 1 por 100.000 ó más), ingiriéndose en el organismo, ya por inyección subcutánea, ya por inyección intravenosa, ya, en fin, por inyección intersticial. Prefiérense, al efecto, pequeños animales (rana, ratón, cobaya, etc.). El examen, que se demora varias horas después de la inyección, practícase en fresco, poniendo en porta-objetos trozos pequeños, disociados, del tejido coloreado.

El mecanismo de la coloración vital no es bien conocido. De ordinario colaboran en el resultado procesos de oxidación y reducción. Así, el azul de metileno redúcese en presencia de la alcalinidad de los tejidos, convirtiéndose en leucobase incolora, que se reoxida en contacto del aire; el color se restablece con selección, es decir, precisamente en determinados puntos de las células ó de las fibras nerviosas. La selección suele operarse de estas dos maneras: directamente, es decir, por imbibición de la partícula viva exenta de capacidad reductriz, é indirectamente

ó sea por fijación tardía del color, previamente convertido en leucobase y regenerado en contacto del aire.

Los citados colores, y muy singularmente el rojo neutro, aprovéchanse para revelar en las células vivas de muchos tejidos, y singularmente en los epitelios, glándulas, corpúsculos sanguíneos y conjuntivos, etc., diversos tipos de finos gránulos, así como cavidades vacuoladas é inclusiones.

Método de Ehrlich para la coloración de las células y fibras nerviosas.—El *azul de metileno* posee, además de las propiedades comunes á todas las anilinas básicas, una virtud importantísima, señalada primeramente por Ehrlich y aprovechada por Arstein, Smirnow, Dogiel, Retzius, Sig. Mayer, Cucatti, etc., en importantes indagaciones, á saber: la de teñir en azul intenso y durante la vida del animal, los cilindros-ejes y terminaciones nerviosas. A este fin se emplean soluciones al 0'3 por 100 en líquido salino indiferente (sal, 0'75; agua, 100), las cuales se hacen penetrar en los tejidos vivos ó recién muertos, bien mediante inyección vascular, bien á favor de irrigación directa, renovada varias veces en media ó en una hora. La reacción sobreviene rápidamente en los animales de sangre caliente, más tarde (una á dos horas después de la inyección) en los de sangre fría, y exige como condición precisa la presencia del aire; las partes profundas impregnadas por inyección, no exhiben la selección característica en los cilindros-ejes hasta que son puestas al descubierto.

La coloración al azul de metileno es, desgraciadamente, pasajera. No obstante, si se tratan las partes teñidas, durante dos ó más horas, por una solución saturada de picrato-amónico, se consigue la conservación de una porción más ó menos considerable del teñido. Este fijador trueca el color azul en violado, y convierte la tinta homogénea inicial en una impregnación de aspecto granuloso.

Recientemente ha propuesto Bethe un mejor fijador de la coloración azul adquirida por las partes nerviosas. Los trozos de tejido fresco y coloreado se sumergen por doce á veinticuatro horas en la mezcla siguiente:

Molibdato amónico	10
Agua	100
Acido clorhídrico	8 á 10 gotas.
Hidrógeno peroxigenado	Unas gotas.

Después de la acción de este líquido, lávanse las piezas en agua para extraer el exceso de molibdato, se induran en alcohol frío, se encastran en parafina y las secciones se montan en bálsamo ó damar.

El alcohol, sin embargo, aun empleado á 0 grados, como aconsejan Bethe y Semi Meyer, disuelve algo el azul.

Nosotros preferimos para la induración la fórmula siguiente:

Agua	100
Formol	20
Solución al 1 por 100 de cloruro de platino	5

Para seccionar, englobamos superficialmente las piezas (que deben permanecer de diez á veinticuatro horas en el líquido precedente) en parafina, recogemos los cortes en alcohol adicionado de algunas gotas de la solución de cloruro platínico, deshidratamos en alcohol puro, aclaramos en xilol y montamos en goma damar disuelta en xilol. Los cortes deben ser algo gruesos, conviniendo, para que adquieran gran transparencia, montarlos al descubierto, como las preparaciones del método de Golgi.

DISOCIACIÓN

El *aislamiento* de los elementos anatómicos puede efectuarse de las siguientes maneras: por *acción mecánica,* por *acción química* y por *compresión.*

Disociación mecánica. — Esta operación recaerá en los tejidos blandos, sobre todo en los que, como el muscular, el nervioso, el fibroso, el del cristalino, están construídos por filamentos largos, paralelamente dirigidos.

Las maniobras de disociación se ejecutan sobre un porta-objetos colocado encima de un fondo negro ó blanco (según sea el color del tejido), con el objeto de percibir claramente, por con-

traste, los más pequeños fragmentos desprendidos. El desmenuzamiento, que se prolongará hasta que las parcelas obtenidas resulten casi invisibles, se efectuará con las agujas enmangadas y bajo una gota de líquido indiferente, á menos que convenga, como sucede en los nervios, ayudarse de la semidisecación. En ciertos casos, se facilitará mucho la operación con el microscopio simple.

La *compresión* de los tejidos frescos ó fijados entre dos laminillas; la *dilución* de los líquidos cargados de células á favor de vehículos indiferentes, y la *inyección* de estos mismos reactivos en los intersticios de tejidos fibrosos, son procedimientos mecánicos que podrán aplicarse también con provecho.

Disociación química. — Se obtiene utilizando la virtud que poseen ciertos reactivos de disolver el cemento separatorio de las células. Así, cuando un trozo de epitelio fresco se abandona por treinta y seis horas en el alcohol al tercio, el epitelio aparece desintegrado, y es fácil trasladar á un porta-objetos numerosas células sueltas, que serán teñidas en la hematoxilina ó en el picro-carminato. La potasa al 40 por 100, el ácido nítrico al tercio, el líquido metílico de Schiefferdecker (agua, 20; glicerina, 10; alcohol metílico, 1); el líquido de Landois (solución saturada de bicromato amónico neutro, 5; solución saturada de fosfato potásico, 5; solución saturada de sulfato sódico, 8; agua, 100), serán muy útiles en casos especiales.

MÉTODO DE LOS CORTES

El método de los cortes comprende el conjunto de operaciones que deben realizarse para conseguir secciones delgadas, transparentes y coloreadas de un órgano ó tejido. La importancia de este método es tan grande, que, á menudo, hace supérfluos todos los demás. Así, por ejemplo, la estructura de los tejidos cartilaginoso, óseo, epitelial, etc., puede estudiarse suficientemente en los cortes, con tal de variar los procedimientos de fijado, inclusión y coloración en armonía con el detalle estructural que se desea poner de relieve.

Es preciso distinguir dos casos en lo referente á las maniobras

necesarias para la obtención de finas secciones: cuando los tejidos seccionables son blandos, y cuando son excesivamente duros, casi pétreos.

A. — Secciones en tejidos blandos

Los órganos blandos, parenquimatosos, *verbi gratia:* el ovario, el hígado, el intestino, la médula, los ganglios, etc., deben sufrir, al objeto de prestarles el endurecimiento conveniente, las operaciones siguientes: fijación, induración y encastramiento ó inclusión; vienen después las maniobras de sección, seriación (si ha lugar), coloración y montaje.

Fijado de las piezas. — Se verificará por uno de los líquidos más atrás mencionados con el título de fijadores. El líquido elegido variará según el objeto que nos propongamos demostrar. Así, cuando se desea estudiar la kariokinesis ó la textura del núcleo, se dará la preferencia al fijador de Rabl ó al de Flemming ó al sublimado; si se intenta poner de manifiesto la textura de los tubos nerviosos, se echará mano del ácido ósmico al 1 por 100, que se hará obrar durante algunos minutos; finalmente, si se busca solamente una imagen de conjunto, sin miras especiales tocante á la textura nuclear ó protoplásmica, se apelará al alcohol absoluto, al formol ó á la acetona.

Induración. — Después de extraer la pieza del líquido fijador, se lava en agua abundante (excepto cuando se emplea el alcohol absoluto), y se sumerge, ya en alcohol, ya en la acetona.

El endurecimiento en alcohol es el complemento obligado de toda acción indurante ó fijadora conseguida con otros reactivos. Así, toda pieza fijada en el ácido ósmico, licor de Flemming, bicloruro de mercurio, licor de Kleinenberg, formol, etc., se trasladará al alcohol, donde permanecerá dos ó tres días. Este reactivo servirá también para acabar el endurecimiento de las piezas de centros nerviosos, indurados previamente en el ácido crómico ó en el bicromato de potasa.

Inclusiones. — La inclusión ó encastramiento es la operación por cuya virtud se hace penetrar en el espesor de la pieza deshidratada por el alcohol, una materia solidificable, que lleva al

máximum la consistencia del tejido y facilita la ejecución de cortes, cuyo espesor oscila entre dos centésimas y una milésima de milímetro.

Muchas son las substancias propuestas con tal objeto, pero los histólogos emplean hoy casi exclusivamente las *inclusiones en parafina y celoidina*. Estas son las que expondremos brevemente, aconsejando al lector deseoso de profundizar el asunto y de conocer los otros modos de encastrar (inclusión en jabón, en albúmina, en agar-agar, en goma, etc.), la lectura de las obras especiales de técnica micrográfica.

a) **Inclusión en colodión y celoidina.** — Este método de encastramiento fué imaginado por M. Duval, que se sirvió primeramente del colodión espeso, que solidificaba mediante el alcohol de 36°. Actualmente se prefiere la celoidina, que es una especie de colodión seco, de color ambarino, soluble lentamente en una mezcla, á partes iguales, de éter á 65° y alcohol de 40° ó absoluto. Algunos proponen la *fotoxilina,* que se disuelve más rápidamente en la mezcla alcoholico-etérea, y forma, cuando solidificada, una masa transparente; pero no posee ventajas sobre el colodión y la celoidina, si hemos de juzgar por propias experiencias.

La solución de celoidina debe tener consistencia de jarabe espeso. En ella permanecen uno ó varios días las piezas; después son abandonadas por veinticuatro horas en alcohol de 36° ó cloroformo puro. Estos líquidos roban el éter de la celoidina, que adquiere una consistencia semejante al caucho.

Antes de incluir las piezas, deben deshidratarse en alcohol absoluto, y se supone que han sido preventivamente fijadas. Para mayor claridad, he aquí la marcha de las operaciones necesarias á una buena inclusión:

1.° Los trozos de tejido blando, de un espesor que no pasará de medio centímetro (la anchura es indiferente), permanecerán veinticuatro horas en una mezcla de éter y alcohol.

2.° Después se sumergirán, por veinticuatro á cuarenta y ocho horas ó más (según el espesor de las piezas), en una primera solución de celoidina al 2 por 100.

3.° Durante dos, tres ó más días, atendido el volumen, se em-

paparán las piezas en una segunda solución de celoidina al 8 ó más por 100. Este líquido debe tener consistencia de espeso jarabe.

4.° Extraída la pieza de la celoidina, se montará inmediatamente (evitando la desecación del vehículo) sobre un corcho limpio y seco, ó sobre un trozo de madera. Pegada á tal soporte, quedará expuesta al aire durante algunos minutos, á fin de que se condense un tanto más la celoidina envolvente.

5.° Los corchos ó maderas con los objetos pegados, se introducirán en un frasco de boca ancha que contenga alcohol de 36°. Aquí permanecerán las piezas (que deben quedar bañadas por el alcohol) unas veinticuatro horas.

6.° Puesta la pieza con su soporte de corcho en la pinza portaobjetos del microtomo, se procederá á seccionarla, cuidando de lubrificar la navaja con alcohol de 36°.

7.° Los cortes serán recogidos en agua, donde permanecerán hasta el momento de ser teñidos. Si la tinctión debiera demorarse dos ó más horas, la conservación de los cortes durante este tiempo se hará en alcohol de 36°.

Observaciones.—El método de inclusión del colodión ó celoidina es aplicable á todos los tejidos sin excepción, aun á los más duros, á condición de estar decalcificados.

El tiempo necesario al englobamiento podrá abreviarse mucho si las piezas son muy pequeñas (3 ó 4 milímetros de espesor). En tal supuesto, cabe practicar todas las operaciones de la inclusión en unas doce ó catorce horas, pudiendo prescindirse del primer baño de éter y alcohol, y aun de la primera solución de celoidina.

b) **Inclusión en parafina.**—Las piezas englobadas en esta materia adquieren una consistencia muy notable, siendo fácil reducirlas con el microtomo á secciones de 3 á 5 milésimas. Hasta los tejidos muy blandos, tales como el nervioso, el glandular y aquellos que encierran repliegues ó cavidades considerables, por ejemplo, el ovario, el testículo, el intestino, los embriones, etcétera, se cortan sin ninguna dificultad, particularmente si se utilizan el microtomo automático de Minot, ó el de la Sociedad de Cambridge.

El orden en las operaciones es el siguiente:

1.° Las piezas, convenientemente deshidratadas y fijadas, se colocarán en una mezcla, á partes iguales, de alcohol y cloroformo. El cloroformo debe echarse después del alcohol y á favor de una pipeta que penetrará hasta lo más hondo, á fin de constituir una capa profunda exclusivamente clorofórmica. En cuanto las piezas, que se mantendrán algún tiempo entre las dos zonas de alcohol y cloroformo, desciendan del todo, pueden trasladarse.

2.° Al cloroformo puro, donde quedarán por seis á veinticuatro horas.

3.° Del cloroformo se transportarán á una solución concentrada de parafina en cloroformo, donde se abandonarán por seis á veinticuatro horas.

4.° Después se conducirán á un baño maría (1) que contenga parafina derretida, y á temperatura apenas superior al punto de fusión. Aquí permanecerán, según las dimensiones, desde ocho horas á dos ó tres días.

5.° Extraída la pieza, se enfriará repentinamente para que la materia de inclusión se solidifique en cristales finísimos (una solidificación lenta da cristales espesos que estropean los elementos); luego se montará en un bloque de parafina, al cual se pegará mediante un escalpelo caliente, terminándose la operación recubriendo la superficie de la pieza con una capa de parafina de 3 ó 4 milímetros de espesor.

6.° Al montar la pieza en el microtomo, se tallará en cuadradillo, procurando que una de las caras se dirija hacia adelante. El filo de la navaja deberá ser paralelo á dicha superficie, es decir, perpendicular á la resbaladera; disposición que favorece singularmente la obtención de series ó cintas de cortes.

7.° Los cortes se llevan á un porta-objetos, se lavan con esencia de trementina ó xilol para quitarles la parafina, y se montan en bálsamo. Se supone, naturalmente, que la pieza fué teñida en masa antes de la inclusión. Ya veremos luego cómo se logra el teñido individual de los cortes.

(1) Utilízase de preferencia el baño maría de Giesbrecht ó de Nápoles, el cual está provisto de termo-regulador de mercurio, termómetro, etc. Su precio viene á ser de 75 francos.

Observaciones. — *A)* El cloroformo y la solución de parafina en cloroformo se emplean, antes de la inmersión en el baño de parafina para facilitar la penetración de ésta en la trama del tejido. Pero pueden utilizarse con tal fin todos los disolventes de la parafina: la esencia de trementina, la esencia de clavo, la esencia de cedro, el xilol, el petróleo, el toluol, etc. El modo de empleo de estos agentes será igual que el del cloroformo. Recientes autores prefieren la esencia del cedro, por entender que retrae menos los tejidos que el cloroformo y xilol.

B) Los cortes de la parafina presentan, á veces, tendencia á arrollarse, imposibilitando el logro de las series. Los remedios propuestos son muchos.

He aquí algunos:

Mecánicamente, se evita dicho enrollamiento superponiendo á la pieza, suavemente y mientras se corta, un pincel ancho y flexible. La navaja pasa entonces por debajo de éste y el corte queda plano.

Se aconseja también tallar en prisma triangular, de arista aguda anterior, el bloque de parafina; con lo que, si el corte se arrolla en espiral, podrá desarrollarse á un suave calor en el porta-objetos, teniendo la precaución de poner el lado ancho y la base de la espiral hacia abajo.

Un procedimiento que, para pequeñas piezas, nos ha dado resultados, es formar la costra exterior de parafina de capas alternadas (por sumersión y rápido enfriamiento de la pieza) de parafina dura y blanda.

El proceder de Strasser, que consiste en mojar antes de cortar la superficie del bloque con parafina blanda derretida, da buen resultado. Otros aconsejan mojar el bloque en agua caliente.

Pero el mejor remedio es usar una parafina cuyo punto de fusión guarde relación con la temperatura del ambiente. Bajo las altas temperaturas del verano (25 á 30°), convendrá una parafina que funda á 55°; en pleno invierno (10 á 12°) se preferirá la parafina que funda á 45°; finalmente, con temperatura de transición (18 á 22°) se ensayarán con ventaja parafinas de punto de fusión de 48 á 50°, ó mezclas, previamente ensayadas, de para-

finas dura y blanda. El punto de fusión de una parafina puede exaltarse con la cocción prolongada.

Seriación y montaje de los cortes en porta-objetos. — *Cortes á la celoidina.* — Los cortes á la celoidina podrán seriarse con sólo recogerlos en una sucesión ordenada de pocillos de porcelana como los que utilizan los acuarelistas. En cada pocillo sufrirá el corte todas las operaciones de teñido, lavado, deshidratación, aclaración, etc., sin confusión alguna, con tal que los pocillos estén numerados.

Cuando los cortes son pocos, no hace falta utilizar ningún procedimiento de adherencia al porta-objetos. Teñidos, deshidratados y aclarados, se lubrifican en una gota de bálsamo y se cubren con una laminilla.

Pero si los cortes son pequeños y numerosos y se desea montarlos ordenadamente en un solo porta-objetos, cabrá utilizar el artificio siguiente: aclarados y ordenados convenientemente sobre el cristal, se mojan con bálsamo al xilol á poca concentración; cuando, transcurrido un cuarto de hora, la capa de fijativo esté casi seca (debe cubrir los cortes), ya no habrá inconveniente en proteger el preparado con el cubre-objetos lubrificado en bálsamo ordinario. La presión de la laminilla no desarreglará las secciones, porque el nuevo líquido conservador será incapaz de reblandecer la costra de fijativo.

Otro expediente, bastante aceptable, es trasladar los cortes, á medida que se obtienen, al porta-objetos, cuidando de mantenerlos húmedos en el alcohol de 36°. Luego se deshidratan una sola vez con alcohol absoluto (sobre el mismo porta) y se aclaran con esencia de orégano, que se quita con xilol. Al cubrir la preparación con una laminilla untada de bálsamo, las series no se desarreglarán, porque el alcohol absoluto, reblandeciendo la celoidina, mantiene adherentes los cortes al cristal. Las esencias, solidificando la celoidina, aumentan la adhesión.

Para series largas y cuidadosas debe preferirse el método de Weigert, á saber:

1.° Conforme se obtienen los cortes, se van colocando, empapados en alcohol á 36°, sobre una hoja de papel *closet,* donde á prevención tendremos marcado el comienzo de la serie.

2.° El papel (siempre húmedo con alcohol flojo) con los cortes hacia abajo, se coloca sobre una lámina de cristal colodionada, como las que emplean los fotógrafos para dar el brillo; se aprieta el papel sobre el colodión, y los cortes se adhieren en cuanto aquél se despega.

3.° El cristal y los cortes (que no deben secarse) se cubrirán de una nueva capa de colodión, la cual se dejará coagular durante algunos minutos.

4.° Puestos los cristales en el agua (antes de secarse él colodión), se desprenderá fácilmente la película del colodión con todos los cortes seriados, pudiéndose ya con toda seguridad ejecutar en ella, como si se tratase de un solo corte, todas las operaciones ulteriores de coloración, deshidratación, aclaramiento y montaje. La esencia para aclarar será la creosota, que transparenta mucho y no ataca á la celoidina.

Cortes á la parafina. — Con los microtomos automáticos llamados de Minot y de báscula (Reichert), se obtiene fácilmente, si la parafina posee la debida consistencia, cintas de cortes, que se pegan al porta-objetos á beneficio del líquido siguiente:

Licor de Schallibaum:

Colodión normal.....	1
Esencia de clavo.....	3

Con esta mezcla se lubrifica, en capa delgadísima, el porta-objetos. Este licor tiene la propiedad de no secarse á la temperatura ordinaria y de coagularse rápidamente. Fijadas las series, llévase la preparación á un baño maría (56 á 60°), donde, á la media hora, se habrá evaporado la esencia y endurecido la capa de colodión.

Ulteriormente se extrae la parafina con la esencia de trementina, y se cubre el preparado con una laminilla untada de bálsamo.

Consideraciones generales acerca de la coloración histológica. — Al modo de la tintura industrial de fibras textiles, la coloración de los cortes histológicos fúndase en la afinidad que

para determinados colores poseen los diversos factores integrantes de la célula y substancias intercelulares.

Distinguen los autores dos maneras generales de teñido: 1.º La coloración llamada *directa* ó *substantiva,* en la cual intervienen solamente *dos cuerpos,* á saber, el tejido y el color, combinándose ó entremezclándose de suerte que la materia colorante queda más ó menos sólidamente fijada y resiste impunemente la acción de sus disolventes. 2.º La coloración *indirecta ó adjetiva,* en la cual cooperan *tres cuerpos,* esto es, el *tejido,* el *mordiente* y la *materia tintórea.* En este proceso, llamado por Heidenhain *pigmentación,* el mordiente se combina primeramente con el tejido y á su vez el color, atraído por el mordiente, constituye una *laca* ó compuesto insoluble en agua. Ejemplo de coloración substantiva es el teñido de los núcleos por el carmín amoniacal ó el de las fibras nerviosas por el azul de metileno. El tipo de las coloraciones indirectas ó adjetivas está representado por la impregnación de la mielina en el método de Weigert (laca de hematoxilina y cobre).

Sobre el mecanismo de la *coloración adjetiva* no hay duda posible. Trátase de la formación de un compuesto tintóreo insoluble, resultante de la combinación del color con el mordiente. Este suele ser casi siempre una *sal metálica* (alumbre de hierro, acetato ó sulfato de cobre, bicromato de potasa, etc.) ó un ácido orgánico como el *tanino.* El punto todavía discutible consiste en decidir si el mordiente se fija en los materiales protéicos mediante combinación química selectiva ó más bien en virtud de un fenómeno físico de imbibición ó absorción.

En cuanto al mecanismo íntimo de la *coloración substantiva ó directa,* es una cuestión obscura sobre la cual distan mucho los técnicos de ponerse de acuerdo. Quiénes defienden la *teoría química,* estimando que el agente tintóreo se combina con las diversas partes de las células, constituyendo sales coloreadas. En tal supuesto, explicaríase fácilmente la selección del color, invocando la diferente composición de los materiales protéicos integrantes del núcleo, protoplasma y substancias amorfas. Quiénes defienden *teorías físicas,* comparando la coloración á un acto de absorción ó de imbibición de los coloides protoplásmicos,

ó identificándola, según propone Wit, con el fenómeno de las *soluciones sólidas* de que nos habla la moderna quimico-física.

Estas incertidumbres acerca del mecanismo de la coloración substantiva (y en parte también de la adjetiva) imponen una gran prudencia en la interpretación de la naturaleza química de las partes coloreables de la célula. Sin duda que, en muchos casos, la coloración enérgica y exclusiva de un factor histológico á favor de un tinte básico ó ácido, denota la existencia de una substancia química especial; pero, en general, el histólogo considerará simplemente los métodos colorantes como recursos encaminados á diferenciar y destacar la estructura ó constitución morfológica de las tramas orgánicas. Para el micrógrafo, pues, el agente tintóreo debe ser algo así como un escalpelo óptico, cuya finalidad consiste en disociar ó diferenciar, mediante fenómenos de absorción cromática, la complicada urdimbre de células y tejidos.

El proceso de la coloración se facilita notablemente por la fijación, es decir, por el empleo de substancias coagulantes de los albuminoides (formol, sublimado, ácido tricloracético, ácido crómico, alcohol metilico y etílico, etc.). Los mordientes principales usados en Histología son: el bicromato de potasa, el sulfato y acetato de cobre, el percloruro de hierro, el alumbre de hierro amoniacal, el ácido fosfomolíbdico, el cloruro de vanadio, el tanino, etc.

Prescindiendo del mecanismo de la coloración, y atendiendo no más al tratamiento ulterior de los preparados teñidos, aquélla se distingue, según nota Heidenhain, en *progresiva* y *regresiva*. Desígnase *progresiva* cuando el tejido adquiere lenta y progresivamente el grado de color necesario, sin exigir ulterior operación de desteñido; por ejemplo: la coloración en el baño de hemateína amoniacal ó en el carmín aluminoso. *Regresivas* son aquellas en que el objeto, sobrecoloreado por la excesiva concentración del agente tintorial, debe sufrir la acción de un disolvente de éste, disolvente que cumple en este caso dos fines esenciales: descartar el exceso de materia colorante y *diferenciar*, es decir, respetar el teñido de determinadas partes del preparado. Los reactivos decolorantes ó diferenciadores más comun-

mente usados son: las *substancias alcalinas* (sosa, potasa, aceite de anilina, etc.); los *alcoholes* (el etílico y el metílico); ciertos *ácidos,* como el sulfúrico, clorhídrico, nítrico, acético, pícrico, oxálico, etc.; determinados *oxidantes* (permanganato potásico, ferricianuro potásico, etc.); algunos *reductores* enérgicos (hidroquinona, ácido pirogálico, ácido fórmico, el formol); ciertas *sales metálicas* de acción mordiente (alumbre de hierro, percloruro férrico, yoduro potásico), y en fin, *metaloides,* como el yodo, el bromo, etc.

Reglas aplicables á toda coloración.—He aquí las principales:

1.ª Antes de teñir, es preciso fijar la pieza con un reactivo coagulante de los albuminoides (alcohol, formol, sublimado, ácidos crómico ú ósmico, etc.).

2.ª El fijador será completamente eliminado á favor de lavado prolongado de las piezas (hay excepciones).

3.ª Hechos los cortes, se extenderán perfectamente en el recipiente portador de la materia colorante y se evitará la superposición de los mismos.

4.ª Salvo excepciones, la coloración es activable por el calor, que no pasará jamás de 50 ó 60°. El empleo de la estufa resultará, pues, sumamente cómodo y útil para las coloraciones difíciles.

5.ª Cuanto más se prolonga la acción del baño tintóreo, más íntimamente penetrará el agente colorante en el interior de las células y más completa resultará la coloración. Igual efecto produce la concentración del baño.

6.ª En fin, la adición al licor tintóreo de mordientes ó el previo tratamiento de los cortes por los mismos, vigoriza también notablemente la coloración y produce á menudo selecciones especiales.

Coloración de los cortes de preparaciones engiobadas en celoidina.—He aquí la marcha sistemática para los carmines, la hematoxilina y las anilinas.

Coloración con el carmín y eosina.

1.° Los cortes lavados en agua destilada se abandonan por seis á veinticuatro horas en el carmín aluminoso de Grenacher, ó en la solución de cochinilla de Czokor.

2.° Lavado en agua para extraer el exceso de color.

3.° Llévanse los cortes á una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.° Nuevo lavado en agua.

5.° Deshidrataciones en alcohol.

6.° Aclaramiento en esencia de clavos, donde se disolverá la celoidina. Si, por tener el corte muchas cavidades, no conviniese extraer la celoidina, se conservará ésta aclarando con la creosota.

7.° Montaje en bálsamo ó resina damar.

Coloración con la hematoxilina y eosina.

1.° Los cortes, recién extraídos del agua, se sumergen en un pocillo de porcelana que contenga cierta cantidad de hematoxilina de Böhmer, ó de Ehrlich, ó de Delafield, etc. Aquí permanecerán de dos á diez minutos, durante los cuales se agitarán, á fin de que el teñido resulte por igual. Evítense los pliegues de los cortes. En ocasiones convendrá, para que el teñido sea más lento y manejable, diluir la hematoxilina en el doble ó triple de agua destilada.

2.° Lavado de los cortes en agua abundante.

3.° Traslación de los mismos á una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.° Deshidratación en alcohol, aclaramiento en esencia de clavos y bálsamo.

Hematoxilina ferruginosa de M. Heidenhain. — Para colorar en negro los núcleos y en gris los centrosomas del protoplasma, aconseja este autor el siguiente método (fijación en sublimado):

1.° Los cortes de tejidos encastrados en parafina se sumergen, por una ó varias horas, en una solución al 2 ó 3 por 100 de alumbre de hierro. Importa que no pasen los cortes de 5 μ si se desea teñir los centrosomas. Fijados con agua destilada al porta-objetos, se someterán á la acción de los baños ulteriores (á este propósito serán muy útiles los cristalizadores cuadrados provistos de ranuras).

2.° Lavado rápido en agua destilada para quitar el exceso de mordiente.

3.° Inmersión, por media ó varias horas, en una solución acuosa de hematoxilina al 1 por 100 (1 hem., 10 Alc., 90 agua). Esta solución de hematoxilina debe estar preparada con antelación (tres á cuatro semanas) y ofrecerá tono amarillo. Al usarse, podrá diluirse en su mitad de agua. El teñido de los centrosomas exige seis á doce horas de acción.

4.° Lavado por algunos minutos en un exceso de mordiente, es decir, en el mismo licor ferruginoso antes citado, en el cual el color negro irá desapareciendo paulatinamente hasta que los cortes tomen un tono gris.

5.° Inmersión en agua destilada para eliminar el mordiente.

6.° Deshidratación, aclaramiento y montaje en bálsamo.

Los núcleos aparecen teñidos de negro ó gris obscuro, y los protoplasmas de moreno más ó menos claro, según el tiempo de acción del mordiente.

Este método puede combinarse con la coloración de fondo del método de Gieson, es decir, con la picro-fuchina, obteniéndose espléndidas coloraciones rojas del tejido conectivo. Para ello no hay más que sumergir los cortes en este reactivo, después de efectuado el lavado que sigue á la decoloración.

Variaciones del método de la hematoxilina ferruginosa.— Coloración de las mitocondrias.

Los filamentos intraprotoplásmicos especiales descubiertos por Benda, y especialmente estudiados por Meves y otros histólogos, han suscitado diversos métodos á base de la hematoxilina de Heidenhain.

Proceder de Meves (1908).

Este autor fija las piezas en el líquido de Flemming, incluye en parafina y colorea después los cortes por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain, que tiñe las mitocondrias de negro, así como los núcleos. La hematoxilina debe estar bien madura.

Regaud y Mawas (1909) fijan las piezas durante veinticuatro horas en una solución formólica de bicromato (formol, 20; solución de bicromato al 3 por 100, 80), las lavan algunas horas en agua, las trasladan después al bicromato al 3 por 100, donde

permanecen de cuatro á diez días, y, en fin, lavan en agua corriente por varias horas y tiñen con la hematoxilina ferruginosa.

Un proceder más complicado, pero excelente, es el siguiente, preconizado por Benda, descubridor de las mitocondrias.

Proceder de Benda.

1.° Las piezas se fijan, durante ocho días, en bastante cantidad de líquido de Flemming (15 vol. ac. crómico al 1 por 100, 4 vol. ac. ósmico al 2 por 100, 6 gotas de ac. acético).

2.° Después de lavarlas una hora en agua, se someten durante veinticuatro horas á este líquido: ácido acético rectificado y ácido crómico al 1 por 100, partes iguales.

3.° Después, veinticuatro horas en bicromato potásico al 2 por 100.

4.° Lavado en agua, renovada varias veces, durante un día.

5.° Alcoholes progresivos é inclusión en parafina. Cortes.

6.° Los cortes, pegados en porta, son privados de la parafina y se someten por veinticuatro horas al alumbre de hierro al 4 por 100.

7.° Lavado en agua corriente, veinticuatro horas, en una disolución acuosa de subalizarinato sódico (Kahlbaum), que se hace vertiendo en agua destilada una disolución alcohólica saturada.

8.° Después de enjugarlos se ponen los cortes en la mezcla de cristal violeta (1 vol. de la disolución saturada en frío en alcohol de 70°, 1 vol. de alcohol clorhídrico, 1 de ac. clorhídrico, 70 alcohol, 30 agua y 2 vol. de agua de anilina) y agua destilada á partes iguales. Se calienta esta mezcla con los cortes hasta la emisión de vapores, y después se deja enfriar cinco minutos.

9.° Se enjugan los cortes con papel chupón, y se tratan durante un minuto en ácido acético al 30 por 100.

10. Se enjugan otra vez con papel chupón; alcohol hasta que no dé color, xilol y bálsamo.

Si con el alcohol se hubiera decolorado con exceso. se puede repetir desde el tiempo 8.° inclusive.

Hematoxilina de Mallory.

1.° Cortes obtenidos por congelación ó de cualquiera otra manera son bañados durante un minuto en este líquido:

Agua	100
Ácido fosfomolíbdico	10

2.° Lavado rápido en agua común.

3.° Coloración, desde veinte minutos á una hora, en la siguiente solución, que deberá estar hecha cuatro ó cinco semanas antes y guardarse á la luz:

Ácido fosfomolíbdico al 10 por 100	10	cent. cúb.
Hematoxilina	1'75	gramos.
Agua	200	cent. cúb.
Ácido fénico	5	gramos.

4.° Lavado dos ó tres veces, durante veinte minutos, en alcohol al 50 por 100.

5.° Deshidratación, xilol, etc.

Las fibras colágenas aparecen azules y bien teñidos los núcleos.

Método de Altmann para la coloración de los bioblastos ó granos intraprotoplásmicos.

1.° Fijación de las piezas en una mezcla, á iguales volúmenes, de solución al 5 por 100 de bicromato potásico y 2 por 100 de ácido ósmico.

2.° Lavado en agua corriente durante algunas horas.

3.° Endurecimiento en alcoholes progresivos y encastramiento en parafina.

4.° Los cortes, delgados, son montados en el porta mediante la albúmina ó el licor de Schallibaum, desparafinados al xilol y mojados en alcohol.

5.° Échanse sobre ellos algunas gotas de solución al 20 por 100 de fuchina ácida en agua de anilina á saturación y se calientan después hasta emisión de vapores.

6.° Enfriados los cortes, trátanse con un líquido en donde en-

tran: solución alcohólica saturada de ácido pícrico, una parte; agua, dos. A fin de diferenciar más enérgicamente, llévanse los cortes sumergidos en el líquido precedente á la estufa á 37°.

7.° Lavado en alcohol, xilol, etc.

Antes de la acción de la mezcla osmio-bicrómica, algunos autores (Schridde) fijan en un líquido, formado por formol, 1, y líquido de Müller, 9, durante veinticuatro horas, lavando después.

Si la reacción sale bien, las granulaciones primitivas de las glándulas y de toda clase de células (*neurosomas* de Held, etcétera) aparecen teñidas en rojo intenso sobre fondo amarillento.

Coloración de los núcleos con las anilinas.

1.° Los cortes permanecen, de diez minutos á una hora, en una solución saturada en agua (conviene añadir al agua algunas gotas de alcohol para que la solución sea más intensa) de uno de los siguentes colores básicos de anilina: la safranina, el azul de metileno, la vesubina, el violado de genciana, tionina, etc.

2.° Los cortes son sucesivamente llevados al alcohol, que se renovará dos ó tres veces hasta que desaparezca el exceso de color.

3.° Aclaramiento en la esencia de bergamota (la esencia de clavos no conviene sino cuando la decoloración es todavía insuficiente, porque disuelve las anilinas) y montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Coloración triple de van Giesson.

Los cortes fuertemente teñidos en una solución de hematoxilina madura se colocan, por algunos minutos, en una solución saturada de ácido pícrico que contenga una pequeña cantidad de fuchina ácida (agua saturada de ácido pícrico, 100; fuchina ácida, 0'1). Los cortes se llevan después al alcohol, donde se deshidratan, se aclaran en esencia de clavos y se montan en damar. Los núcleos aparecerán violados, amarillos los epitelios y rojos los haces conjuntivos.

Método de Romanowski. — Se comienza por juntar á partes iguales estos dos líquidos: solución acuosa al 0'2 por 100 de azul

de metileno y solución á igual título de eosina. En el líquido así formado precipítase una substancia que ha llamado *eosinato de azul de metileno,* soluble sólo en agua bajo la acción del calor.

Calentado el líquido á 70 ó 90°, se sumergen en él, por algunos minutos, los cortes, los cuales, una vez extraídos, se lavarán primero en agua y luego se decoloran en el alcohol hasta que pierdan el exceso de azul.

El eosinato de azul de metileno se desdobla en presencia de los tejidos; los núcleos atraen el azul y los fascículos conjuntivos se tiñen de rojo.

Método de triple coloración con la fuchina ó magenta, el ácido pícrico y el carmín de índigo (Cajal).

1.° Los cortes se sumergen, durante cinco á diez minutos, en una solución saturada ó muy concentrada de rojo magenta (fuchina roja ordinaria).

2.° Lavado rápido en agua abundante para arrastrar el exceso de color.

3.° Coloración, por cinco á diez minutos, en la siguiente solución: agua saturada de ácido pícrico, 100; carmín de índigo, 0'25.

4.° Lavado rápido en agua acética (en un pocillo de porcelana, lleno de agua, se echan dos ó tres gotas de ácido acético).

5.° Lavado durante medio minuto ó más en agua común para arrastrar el exceso de ácido pícrico.

6.° Decoloración en alcohol absoluto, hasta que los cortes hayan desprendido el exceso de magenta, lo que se conocerá en el color violado general adquirido por aquéllos.

7.° Aclaramiento en xilol ó bergamota.

8.° Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Es éste sin disputa uno de los métodos más apropiados para teñir todos los órganos que contienen epitelios y trama conectiva. Los núcleos aparecen impregnados enérgicamente en rojo vivo; los protoplasmas exhiben una tinta verde clara ó rosáceo-amarillenta, y los haces conjuntivos se presentan de azul puro intensísimo. Tiene además este método la ventaja de la facili-

dad y rapidez de ejecución, así como la perfecta conservación de las preparaciones.

En general, el ácido pícrico goza de la propiedad de transformar todo color soluble en las soluciones de aquél en un excelente reactivo de la substancia colágena. Hasta la misma hematoxilina de Weigert-Pal, asociada al ácido pícrico en saturación, se convierte en un reactivo acidófilo, que tiñe la colágena de violado azul.

En Alemania se ha propuesto también una modificación, que consiste en invertir las operaciones, es decir, teñir primeramente con el picro-carmín, diferenciar con el acético y terminar por la coloración en fuchina. Procediendo así, se corre menos riesgo de que los núcleos palidezcan.

C. Calleja ha modificado todavía este método utilizando para el teñido nuclear el carmín de Orth ó el aluminoso. La coloración roja resulta así muy estable.

En fin, una bella coloración azul de los haces colágenos puede lograrse también sumergiendo los cortes después de la acción de la fuchina ú otro color básico, en una solución concentrada de *azul de metileno ácido,* reactivo recientemente introducido en la técnica.

Coloración de las preparaciones englobadas en parafina.—Las preparaciones á la parafina pueden teñirse de dos modos: *en bloque,* antes de la inclusión, y *en los cortes,* después de la fijación de éstos en porta-objetos.

Teñido en masa.—Se realiza cuando la pieza acaba de ser endurecida y fijada. Los líquidos colorantes preferibles al efecto son: la hematoxilina de Bœhmer ó Ehrlich, el carmín aluminoso, la hematoxilina de Heidenhain, el carmín lítico de Orth, etcétera; las piezas deben ser pequeñas y permanecer de seis á veinticuatro horas ó más en los líquidos colorantes.

Teñido en porta-objetos. — Se efectúa sobre los cortes pegados al cristal y desprovistos de parafina. Para ello se lubrifica la preparación con esencia de trementina, luego con alcohol fuerte, y últimamente con agua destilada. En este momento se aplica el color (hematoxilina, safranina, carmín lítico, etc.), subsiguiendo todas las operaciones requeridas para el montaje, á

saber: lavado en agua, deshidratación, aclaramiento en esencia y conservación en bálsamo.

Como materia fijadora al cristal de los cortes seriados, se preferirá el licor de Schallibaum.

B. — Secciones en tejidos duros

El hueso y el diente, así como el cartílago en vías de osificación, pueden seccionarse, ya en su estado natural, ya previo reblandecimiento por los reactivos ablandantes ó decalcificantes.

La obtención de cortes del diente y hueso con su consistencia natural, lógrase utilizando un procedimiento análogo al usado por los petrógragos para la sección de las rocas.

He aquí el *modus operandi* en el hueso:

1.° Obtención, con la sierra pelo de relojero, de un corte grosero, que comprenda, á ser posible, todo el espesor de la diáfisis de un hueso largo (radio, cúbito, témur).

2.° Sobre una piedra arenisca ó rueda de vaciador, se desbasta el corte por ambas caras, hasta que presente un espesor de menos de medio milímetro.

3.° El corte se lleva á una piedra fina de afilar, como la usada por los peluqueros, en la cual, y mojada con alcohol, se pule y adelgaza hasta que resulte transparente.

4.° Lávase el corte en alcohol limpio y se deja secar sobre papel chupón.

5.° Finalmente, llévase el corte á un porta-objetos donde habrá una gota de bálsamo del Canadá privado de aceite esencial por el calor y recién liquidado á la lámpara. Antes que el bálsamo se solidifique por enfriamiento, se cubre el preparado con una laminilla, oprimiendo fuertemente para repeler el exceso de vehículo.

Al microscopio, se presentarán las lagunillas óseas y conductos calcóforos de color negro, por el aire que contienen (el aire encerrado en el bálsamo muestra contornos obscuros); y allí donde el aire haya sido rechazado por el vehículo, las laminillas óseas se percibirán correctamente.

Del mismo modo se harán los cortes de diente, con tal de que no interesen el esmalte, tejido que raya el acero. Los cortes longitudinales (que comprenden naturalmente la costra adamantina) no pueden practicarse con la sierra, por lo cual nos vemos obligados á desgastar pacientemente el diente entero en la rueda de afilador, hasta obtener una lámina delgada, que acabará por afinarse y pulirse sobre una piedra fina de peluquero. Para evitar el desgaste de los dedos durante las maniobras citadas, algunos operadores pegan previamente la pieza con bálsamo del Canadá seco á un mango de madera.

Los cortes de hueso y diente pueden también teñirse con los colores de anilina, obteniéndose bellas imágenes de los conductitos calcóforos y osteoplasmas.

Ranvier, que fué el primero en aplicar las anilinas con tal objeto, propuso impregnar las secciones de hueso con azul de anilina y conservarlas en glicerina salada. Pero, desgraciadamente, la preparación se decolora al poco tiempo, y los conductitos óseos no se revelan con la claridad y limpieza que en los cortes conservados en bálsamo. Para obviar estos inconvenientes, propusimos nosotros el siguiente método, que proporciona preparaciones muy bellas y absolutamente permanentes (las que conservamos desde hace treinta años están hoy como el primer día).

Procedimiento de coloración del hueso según Cajal.—«Una sección ósea bien afilada en la piedra, se abandona por algunos días en una solución alcohólica saturada de violeta de dalia (cualquier anilina insoluble en agua puede emplearse lo mismo). El corte y el líquido se colocan en un vidrio de reloj á fin de que el alcohol se evapore rápidamente. Cuando el corte está seco, se afila nuevamente (en agua) por ambas caras hasta despojarlo de la costra superficial de color; se deja secar, previo lavado en agua destilada, y se le da transparencia en la esencia de bergamota. La preparación se concluye montando el corte (todavía mojado con la esencia), en el bálsamo del Canadá seco recién derretido al calor. La inclusión en la resina damar disuelta en la bencina, es también de recomendar, pues no disuelve el violado de dalia. No obstante, nosotros preferimos el bál-

samo seco, pues la preparación queda dura y manejable inmediatamente de terminada» (1).

Procedimiento de Zimmermann (2). — Este autor, sin tener conocimiento del método arriba citado, ha propuesto un procedimiento de teñido muy semejante al nuestro, á saber: «Delgados cortes de hueso, desengrasados en xilol, se tratan en caliente hasta desecación, por una solución alcohólica saturada de violeta de metilo. Los cortes desecados se privan de la costra exterior de materia colorante, raspándolos con un escalpelo y afilándolos en la piedra bajo una gota de xilol. Es recomendable calentar el bálsamo antes de cubrir la preparación para aumentar la densidad del vehículo».

Se ve, por lo expuesto, que el método de Zimmermann es substancialmente idéntico al nuestro; pues tanto monta usar una anilina como otra, y lo mismo da aplicar la goma damar disuelta en bencina que el bálsamo disuelto en xilol; lo esencial es conservar el preparado en una solución resinosa que no disuelva las anilinas. Por lo demás, este procedimiento no proporciona preparaciones tan estables como el nuestro; sucede indefectiblemente con todo preparado teñido con las anilinas y conservados en menstruos líquidos, que al cabo de cierto tiempo palidece y se deteriora.

Procedimiento de teñido con nitrato de plata. — Si un corte afilado de hueso se sumerge primeramente en nitrato de plata, se lava después en agua común, y se expone al sol por algunos minutos, las laminillas óseas aparecerán impregnadas en café claro, y de un matiz más intenso el cemento separatorio de las mismas. Esta reacción, que ya fué notada por nosotros hace muchos años, há sido primeramente publicada por Matschinsky (3), quien la ha utilizado ventajosamente para el estudio de la textura del hueso (4).

(1) Cajal: Tejido óseo. *Boletín Médico Valenciano.* Enero de 1887.

(2) Zimmermann: Demonstrationen der mikroskopische Praparte. *Verhandlungen des anatomischen Gesellschaft auf dritten Versammlung in Berlin.* 10-12 October 1889.

(3) Matschinsky: Ueber das normale Waschtum der Röhrenknochen, etc. *Arch. f. mikros. Anatomie.* Bd. 29, 1892.

(4) Desde hace más de treinta años, posee el Laboratorio Histológico de

INYECCIONES

Las inyecciones histológicas tienen por objeto hacer perceptibles los conductos vasculares y glandulares, mediante la introducción de materias coloradas coagulables.

En el arte de las inyecciones hay que estudiar dos cosas: las masas de inyección y los instrumentos inyectores.

Masas de inyección. — Muchas son las propuestas, pero no todas reunen las condiciones requeridas, que son: ser transparentes, fácilmente solubles, y no trasudar de los vasos.

He aquí las dos fórmulas que dan mejores resultados:

Masa al carmín, según Ranvier. — Con dos gramos y medio de carmín y unas gotas de agua se hace una pasta, que se disolverá en la menor cantidad posible de amoníaco. Esta disolución se echa gota á gota en otra de cinco gramos de gelatina, disuelta al calor en la cantidad de agua que esta substancia absorba durante algunas horas de hidratación. Hecha la mezcla, no falta más que neutralizar el exceso de amoníaco con una solución de ácido acético; la desaparición del olor amoniacal nos advertirá de la neutralización.

Masa al azul de Prusia. — En el comercio de objetos de micrografía, se halla un azul de Prusia, que á favor de largo tratamiento por el agua destilada, y en virtud de un cambio químico no bien dilucidado, se ha hecho perfectamente soluble en agua. De la solución acuosa saturada de este azul de Prusia, se tomarán 6 ó 7 gramos, que se mezclarán con 5 gramos de gelatina disuelta al calor en su agua de absorción.

La *tinta china* y el *nitrato de plata* suministran también masas de inyección aplicables á ciertos casos. Así, cuando se trata de inyectar el hígado, podrán llenarse las arterias con la masa de carmín, las venas con la masa de azul de Prusia y los conductos biliares con una solución de tinta china.

La demostración del endotelio de los capilares exige la inyec-

la Facultad de Medicina de Madrid, una preparación del hueso ejecutada por este método, y que ha servido á los profesores y ayudantes para la demostración de las laminillas óseas.

ción de los vasos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300, adicionada ó no de gelatina.

Instrumentos inyectores. — Tales son las jeringas ordinarias usadas en las salas de disección, y las especialmente destinadas á inyecciones finas, construídas según las indicaciones de Robin, Ranvier, Lacaze-Duthiers, etc. Todos estos aparatos (que van

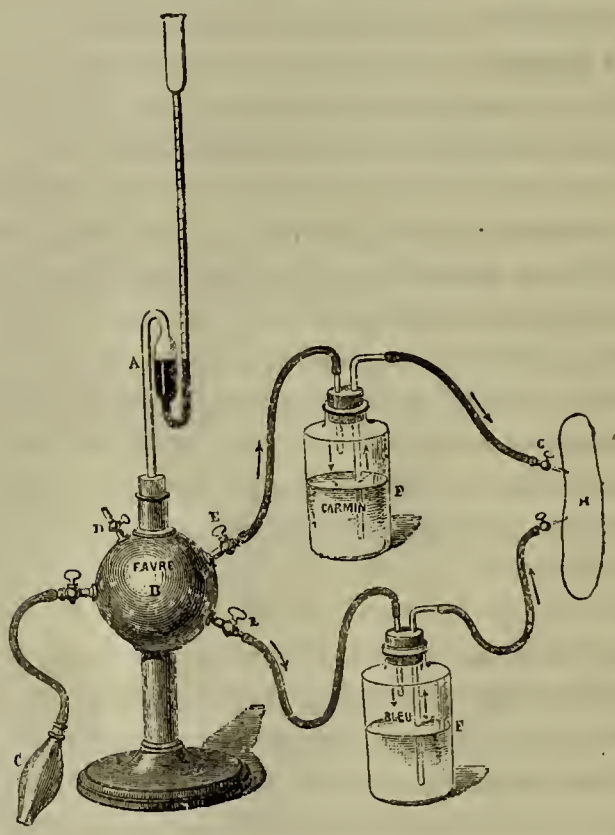

Fig. 69. — Aparato inyector de presión continua. — B, reservorio de aire; A, manómetro; C, pera de caucho, donde se hace la presión; F, frascos con las masas de inyección que se mantienen calientes á favor de un baño maría.

provistos de los accesorios indispensables, tales como cánulas, tubos intermediarios con llave, mandrines), dan excelentes resultados con tal que el operador adquiera alguna habilidad.

En ciertos casos se preferirán los inyectores de presión continua, entre los cuales debe mencionarse el de Latteux (figura 69), que consiste en una bomba (A), de paredes resistentes, destinada á reservorio de aire, de la cual emergen cinco tubos:

dos terminados en los frascos que contienen las masas de inyección E, uno que aloja al manómetro (A), otro que conduce á la pera de caucho, donde se ejerce la presión (C), y el último (D) que sirve para dar acceso al aire exterior en el reservorio. Por el examen de la figura 69, se vendrá fácilmente en conocimiento del mecanismo del aparato; así, la presión ejercida en la pera de caucho se transmite al reservorio, y de éste á la cámara de aire de los frascos, de donde la masa de inyección se escapa hacia la cánula final, merced al tubo que enlaza ésta con el fondo de la vasija.

En los mamíferos de talla media (perro, gato, conejo, conejillo de Indias), y con más motivo en los de gran tamaño, toda inyección histológica debe ser parcial, tanto para ahorrar materia de inyección, cuanto para asegurar la penetración de ésta en los capilares más finos. Durante la operación, convendrá que el órgano esté sumergido en agua caliente, que se cambiará por fría en cuanto termine la inyección, al objeto de coagular rápidamente la gelatina; evítanse así los escapes de líquido, pudiendo cortarse la pieza sin temor momentos después de la operación.

El endurecimiento se efectuará en alcohol, donde las piezas, reducidas á pedazos no muy grandes (de 1 á 2 cent. cúb.), permanecerán de tres á cinco días. Los cortes serán algo espesos y se conservarán, sin previa coloración, en bálsamo del Canadá. Cuanto más transparente sea la coloración, más limpiamente resaltarán los capilares inyectados.

CAPÍTULO X

D.—*Conservación de las preparaciones.*

Conservación en el bálsamo del Canadá y en la glicerina.

Bálsamo del Canadá. — Actualmente, apenas se emplea otra cosa que el *bálsamo del Canadá seco,* disuelto en xilol en cantidad tal, que se obtenga un líquido de consistencia de jarabe espeso. La *resina damar,* disuelta también, á gran concentración, en xilol ó bencina, suele utilizarse corrientemente. Cuando las soluciones resinosas son débiles, fórmanse burbujas de aire en los preparados, á consecuencia de la desecación y retracción del vehículo.

Todo corte debe, antes de ser incluído en el bálsamo, deshidratarse en alcohol absoluto ó muy fuerte, y aclararse en una esencia, que será la de clavos, cedro, bergamota, orégano, trementina ó el mismo xilol.

No es indiferente la elección de una esencia. Siempre que no haya inconveniente en *disolver la celoidina de un corte, la esencia preferida será la de clavos,* por dos razones: porque aclara rápidamente, y porque no abarquilla ni retrae los cortes. Para los cortes de piezas no incluídas, es decir, para las exclusivamente induradas en alcohol, será asimismo preferida.

Mas cuando *sea fuerza retener la celoidina, el aclarador soberano será la creosota,* substancia que goza de tres valiosas propiedades: no arruga los cortes, transparenta rápidamente y no disuelve la celoidina. Una buena esencia para estos casos es también la de orégano.

Los cortes *teñidos con las anilinas* se aclararán en las esencias que no disuelven estos colores, á saber: la de bergamota,

trementina, xilol, etc. Su empleo exige perfectas deshidrataciones en el alcohol de 40°, ó absoluto.

Para mayor claridad, he aquí el orden de las operaciones del montaje en el bálsamo:

1.° Deshidratación de los cortes, que se pasarán, al efecto, por dos ó tres pocillos de porcelana llenos de alcohol de 40° y mejor en el absoluto.

2.° Rápida inmersión de los mismos en esencia de clavo, creosota ó bergamota, etc.

3.° Después de algunos minutos de permanencia, y cuando la transparencia de los cortes sea perfecta (las manchas opacas indican presencia de agua y hay que volver á deshidratar), se trasladan á un porta-objetos.

4.° El exceso de esencia se escurre del cristal, que permanecerá algunos minutos en posición oblicua. Con igual fin cabrá también enjugar los cortes con papel secante bien limpio (1).

5.° Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Glicerina.—La *glicerina,* como materia conservadora, tiende á abandonarse, sucediendo lo mismo con la glicerina gelatinada, mezcla de Farrant, líquidos salinos, etc.

Toda preparación á la glicerina se altera tarde ó temprano, por lo cual la glicerina sólo debe servirnos para estudiar temporalmente ciertos preparados, cuyos finos detalles exigen, para su cómoda percepción, vehículos de menor índice de refracción que el bálsamo.

El montaje se hace de una de dos maneras: ó por el procedimiento de la célula y betún de Judea, ó por el del lacre y parafina.

Montaje y cierre al betún.—Comiénzase por trazar con betún semilíquido, sobre un porta-objetos, un círculo de cemento que se deja secar. Este círculo se hace con ayuda de un pequeño instrumento llamado *rueda giratoria.* El cemento más á propósito es una mezcla, á partes iguales, de betún de Judea disuelto

(1) Si se emplea la creosota ó la esencia de clavos convendrá, después de escurrida del porta-objetos, tratar rápidamente los cortes por el xilol; de este modo se evita el exceso de transparencia y la decoloración del teñido que un resto de aquellas substancias podría producir en la preparación.

en esencia de trementina, y del *Gold-size,* ó cemento de los doradores. Obtenido el círculo ó *célula,* se colocan en su centro la preparación y la glicerina; se cubren con una laminilla, se aprietan para rechazar el excedente de vehículo, y, una vez limpio de glicerina el cubre-objetos, se hace en torno de éste otro círculo de betún. Yo suelo reforzar todavía esta cementación con otra que presta gran solidez al cierre; consiste este cemento complementario en una mezcla de color al óleo para pintores (blanco de España, bermellón, etc.), con un barniz secante cualquiera ó con el mismo *Gold-size*, adicionado, para que tenga una consistencia apropiada, de unas gotas de esencia de trementina.

Montaje al lacre y parafina. — Este cierre, preconizado por Ranvier, y muy usado en nuestros laboratorios (López-García, Del Río, etc.), es también muy sólido. Colócase la preparación y glicerina en el porta-objetos, cúbrese el todo con una laminilla cuadrada ó cuadrilonga, y, limpio el excedente de vehículo, se practica, con parafina dura y con ayuda de un hierro candente, una primera cementación marginal. Solidificada la parafina, se pasa por el borde del cubre-objetos un pincel cargado de una solución espesa de lacre en alcohol.

El primer método de cierre y montaje conviene especialmente para los cubre-objetos redondos y las preparaciones deleznables que la menor presión pudiera destruir; el segundo método, más expedito, es más adecuado para los cubre-objetos cuadrados y las preparaciones extensas y poco vulnerables.

PARTE SEGUNDA

ANATOMÍA GENERAL

CAPÍTULO PRIMERO

Concepto y división de Histología ó Anatomía general. — Estequiología. Concepto de los principios inmediatos. — Histología orgánica.

La Histología es rama de la Anatomía. — La *Anatomía* ó *Morfología,* como muchos la llaman, es la ciencia biológica que trata de la materia y de la forma, tanto exterior como interior de los seres vivientes.

Esta ciencia, la primera de las que constituyen el grupo de las biológicas, alcanza tanta extensión, que ha sido forzoso dividirla en numerosas ramas, atendiendo unas veces al reino, grupo ó especie de los seres que investiga (anatomía vegetal, anatomía animal, anatomía humana, etc.), considerando otras el valor relativo y grado de generalidad de los hechos morfológicos que forman la materia de su estudio (anatomía descriptiva, general, comparada, etc.).

Pero entre las divisiones posibles, conforme á este último criterio, ninguna más importante que la de *Anatomía general* y *Anatomía descriptiva.*

No discrepan gran cosa estas dos ramas anatómicas por el objeto, sino por el método. La *Anatomía descriptiva* estudia las partes especiales á cada ser ó grupo de seres muy afines, aquellas disposiciones de estructura poco ó nada repetidas dentro de un mismo organismo, y que exigen, por no asemejarse apenas entre sí, una descripción individual; tales son: los *órganos,* los *aparatos* y el *organismo en conjunto.*

La *Anatomía general* ó *Histología* investiga las partes comunes ó repetidas dentro de un mismo ser, y generales á muchos organismos, aquellas disposiciones de estructura que, según la feliz expresión de Bichat, una vez conocidas para una región del cuerpo, lo son también para las demás y aun para la mayor parte de los seres. Tales factores generales de construcción son: los *principios inmediatos*, las *células* y los *tejidos*.

Un ejemplo aclarará todavía el concepto diferencial de estas dos ramas anatómicas. El estudio de los huesos puede hacerse de dos maneras: inquiriendo todas aquellas propiedades que los distinguen, tales como la forma, posición, magnitud, conexiones, etc., y éste es el método de la *Anatomía descriptiva;* ó considerando solamente cuanto dichos órganos tienen de común, que no puede ser otra cosa que su materia (los principios inmediatos, osteína, sales, etc.) y su trama íntima (células óseas, conductos calcóforos, lagunas óseas, etc.), y éste es el método de la *Anatomía general.*

Cabría pues, en síntesis, definir la *Anatomía general* ó *Histología* diciendo que es *la rama de la Anatomía que estudia los materiales químicos y partes morfológicas más sencillas y comunes integrantes de la organización de los cuerpos vivos.* Ya hemos dicho que estos factores comunes, estos componentes repetidos dentro del organismo y en gran parte extensivos á todos los seres vivientes (los principios inmediatos, las células y los tejidos), constituyen el sujeto de estudio de la *Anatomía general,* ciencia que no ostenta el calificativo de *general* por versar sobre abstracciones ó generalidades, sino por ocuparse en la descripción de hechos generalizados.

No son en igual grado extensivos los conocimientos de esta ciencia. La materia (ó sean los principios inmediatos) es más general que la forma, y la forma elemental (células) aparece más extendida que la complicada (tejidos). Esta consideración de la decreciente generalidad de los hechos anatómicos permite establecer el orden en que deben estudiarse las tres secciones de la Anatomía general ó histología: 1.°, los *principios inmediatos* ó *estequiología* (de στοιχεῖον, elemento, y λόγος, tratado); 2.°, los *elementos anatómicos* ó *citología* (de κύτος, célula, y

λόγος, tratado); 3.°, los *tejidos* ó *histología* (ἱστός, tejido, y λόγος, tratado).

Estequiología.—Principios inmediatos son aquellos cuerpos simples ó compuestos, separables por medios puramente físicos, y de cuya mezcla, en proporciones determinadas, están construídas las células y tejidos. Lo que caracteriza, por tanto, á los principios inmediatos no es su naturaleza, pues los hay orgánicos é inorgánicos, ni su complejidad, pues los hay simples, como el oxígeno, y complicadísimos, como la albúmina, sino el doble atributo de ser cuerpos anatómicamente disociables, y de constituir la materia de que están modelados los seres vivientes.

Los elementos químicos de cuyas variadas combinaciones resultan los principios inmediatos, son: el carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, cloro, silicio, fluor, potasio, sodio, magnesio, litio, calcio, plomo, hierro, cobre y manganeso.

Muchos de los principios inmediatos son comunes al reino orgánico y al inorgánico. Pero existe una categoría de cuerpos, generalmente de gran complejidad, que por encontrarse exclusivamente en los seres vivientes, llámanse *substancias orgánicas*.

En la molécula de estos cuerpos entra, como factor principal, el carbono, cuya cualidad de tetra atómico y la virtud que sus átomos poseen de combinarse entre sí, engendrando cadenas moleculares complejísimas, explican, en parte, la riqueza extraordinaria de los compuestos orgánicos.

En estos últimos años la estequiología ha alcanzado tan pujante desarrollo, que siguiendo la ley bien conocida de la división del trabajo, se ha emancipado del viejo tronco anatómico para constituir asociada á la fisiología general, de que es base y fundamento, la moderna *química biológica*.

Por consecuencia de ello, el estudio de esta ciencia requiere la aplicación y dominio de métodos propios, alejados de las prácticas de la micrografía usual, y sus conquistas, cada día más importantes, no pueden ser expuestas ya, ni siquiera en forma resumida, en un breve curso de Histología normal.

Estas razones, junto con la consideración de la conducta seguida por los más autorizados tratadistas de Histología, nos

obligan á omitir en este libro los breves capítulos consagrados en anteriores ediciones á la Estequiologia, consignando, sin embargo, al final de cada tejido aquellas nociones de Histoquimia intimamente enlazadas con la morfologia histológica, y capaces de explicar, en cierta medida, los efectos de los reactivos y las propiedades fisiológicas de células y de materias amorfas.

Citología ó elementología. — Comprende esta sección el estudio de las células consideradas en sí mismas, es decir, en lo que tienen de común, y abstracción hecha de su modo de asociación y de sus actividades especificas.

Histología. — Esta parte de la Anatomía general inquiere también las células ó unidades vivientes, pero no de un modo general y abstracto, sino en sus especies ó razas, y considerando, sobre todo, su modo peculiar de congregación y sus especializaciones fisiológicas.

La extraordinaria importancia de los tejidos y un abuso de lenguaje cada vez más extendido, han conducido á estimar como sinónimas las voces *histología* y *anatomía general*. Pon consiguiente, la expresión *histología* significará unas veces la parte (histología propiamente dicha), y otras el todo (anatomía general).

Histología orgánica. — La identidad de la técnica de indagación ha servido, á falta de otras razones, para aproximar, bajo la pluma de casi todos los autores, materias tan esencialmente distintas como la textura de los órganos ó partes especiales (terreno de la anatomía descriptiva) y la historia de los elementos ó partes generales (terreno de la anatomía general).

Esta reunión de materias algo heterogéneas, si peca de ilógica, es realmente práctica y beneficiosa; por lo cual y por seguir en esto la costumbre, añadiremos, con ocasión de la exposición de ciertos tejidos, algunas descripciones histológicas de órganos, ó más propiamente algunas nociones de *organografía micrográfica,* invadiendo de este modo el campo de la anatomía descriptiva.

CAPÍTULO II

ELEMENTOLOGÍA

Apuntes históricos.

La Anatamía general es la creación de un hombre de genio, del gran Bichat. Hallábase casi agotado el análisis macroscópico y orgánico, cuando, á fines del siglo XVIII, tuvo Bichat la feliz idea de estudiar las partes orgánicas bajo otro punto de vista, entresacando del cúmulo de particularidades de la Anatomía, aquellos hechos que tienen carácter general, que no son patrimonio de un órgano ni de un organismo, sino factores necesarios de muchos órganos y diversos organismos. Este método fecundo, aplicado con singular talento por su autor, dió origen á la Anatomía general.

Redujo Bichat los componentes simples de los órganos á 21 tejidos fundamentales, encarnó en ellos los atributos de la vida, y pensó que, de igual modo que la física estudia las propiedades de los cuerpos brutos, la fisiología debía estudiar las propiedades de los tejidos vivos.

Y cosa extraña, Bichat, en la distinción de los tejidos, en el estudio sagaz y porfiado á que los sometió para conocer sus propiedades, no hizo uso del microscopio, antes bien, parece que desconfiaba de este precioso instrumento, quizá porque en manos de sus contemporáneos había sido ocasión de groseros errores. Privóse Bichat, con rechazar tal recurso, de completar la historia de los atributos de los tejidos con el más importante, el más característico, que es la textura ó composición íntima morfológica, la cual sólo el microscopio podía revelarle.

Afirmar que, á pesar de la inmensa variedad de los órganos y aparatos, no hay en todos ellos sino meras combinaciones de

algunos pocos materiales de construcción, los tejidos vivos; descentralizar la vida del órgano y confinarla en el tejido como una propiedad exclusiva, era seguramente un gran progreso: mas esto era poco todavía; preciso era llegar á las partes elementales últimas de la trama vital y localizar más íntimamente la vida.

Aunque el microscopio de entonces no consentía la ejecución de muy perfectos trabajos analíticos, numerosos investigadores, muchos anteriores á Bichat, habían emprendido el ardua tarea de descubrir los últimos componentes morfológicos del tejido, destejiendo y desenmarañando la urdimbre vital, á fin de reducirla á sus sencillos hilos componentes.

Ya en 1665, medio siglo después de la invención del microscopio por Jansen, Robert Hooke acertó á distinguir con el mencionado aparato en la trama del vegetal unas partes á manera de celdillas, comparables al panal de la abeja, que designó con el nombre de *células* y poros (*cells and pores*). Malpighi, de Bolonia (1671), distinguiólas igualmente y las llamó *utrículos*, y, casi al mismo tiempo, las dieron á conocer Green y Leewenhoek bajo la denominación de *vesículas*. Por entonces también se iniciaba la técnica histológica con la invención de las inyecciones vasculares por Ruysch y Swammerdam.

Estos descubrimientos, que se sucedieron en brevísimo lapso de tiempo, fueron el punto de partida de innumerables trabajos. Malpighi y Leenwenhoek, no contentos con sus fecundas pesquisas por el rico campo del mundo vegetal, invadieron, ávidos de nuevas sorpresas, la virgen trama de los animales, y distinguieron por primera vez los glóbulos de la sangre, las células glandulares, musculares y nerviosas; en fin, casi todos los elementos de los tejidos normales.

De igual manera que el espacio á impulsos del telescopio de Galileo, el mundo de la vida se dilataba y poblaba, merced al microscopio, de innumerables estrellas, las células, focos de vida y de calor.

En medio de aquellas imprevistas maravillas, caminando de sorpresa en sorpresa, estrellándose á cada paso con la esfinge de lo desconocido, no es de extrañar que aquellos sabios, los Colones de la anatomía microscópica, cayeran en inocentes errores,

y faltara á sus trabajos ese método científico y esa sistematización, sin los que las verdades adquiridas son á la memoria fatigosas y al entendimiento infecundas. Ocupábanse en ver, sin cuidarse apenas de pensar: acaparaban materiales, sin tener tiempo de reaccionar intelectualmente sobre ellos para organizarlos y comprenderlos.

Con ser tan incompletas las descripciones que nos dejaron, y á despecho de la imperfección de los instrumentos utilizados, una cosa quedó plenamente patentizada: que lo homogéneo de las masas orgánicas es falaz apariencia, y que en el fondo de la trama de la vida, como elemento primordial, hállase tenazmente repetido un diminuto corpúsculo, la vesícula ó el utrículo, de cuya acumulación ó yuxtaposición los seres se constituyen.

La noción celular era entonces en extremo sencilla: una cavidad llena de líquido y rodeada de una membrana, tal era la fórmula estructural del elemento orgánico. Y continuó admitiéndose con esta seductora simplicidad, hasta que, en 1781, el ilustre Fontana reveló la presencia del núcleo y del nucleolo. Sirvióse en estas observaciones, por primera vez, de álcalis y ácidos y de substancias colorantes vegetales; así que, con justo título, se le considera como el padre de la histoquimia. Sin embargo, su descubrimiento del núcleo no adquirió la importancia que se le otorgó más tarde, hasta que Brown confirmó su existencia, generalizándose á todas las células. Meyen, Schleiden, Schwann, Nægeli, comprobaron los estudios de Brown, desentrañando el papel fisiológico del núcleo; y Valentin llamó la atención sobre la existencia del nucleolo, poniendo en boga el ya casi olvidado descubrimiento de Fontana.

Mas para que la célula se estimara como un elemento general de la composición de los organismos, preciso era demostrarla en la trama del animal, como lo había sido en la del vegetal. El ilustre Turpin (1826), tuvo la gloria de entrar magistralmente en esta vía tímidamente abierta por Leewenhoek más de cien años antes. Turpin afirmó antes que nadie que la célula es un elemento fundamental de construcción de los seres vivos, el cual, por su yuxtaposición, forma tanto los animales como las plantas;

que las diferencias que distinguen los primeros de las segundas son meramente accidentales, y, por último, que la materia viviente se rige por iguales leyes anatómicas en todos los organismos.

La demostración de la unidad anatómica de los seres fué un paso decisivo en el camino del progreso; pero no se detuvo aquí Turpin, que fué el hombre de las grandes intuiciones. La estatua de la vida estaba ya modelada con el descubrimiento de la célula; pero faltaba el Prometeo de la fábula que la animara con el fuego sagrado. Y este Prometeo fué el mismo Turpin. Consideraba este sabio la célula, no como un cristal inerte, simple arcilla de construcción, sin más propiedades que las morfológicas, sino como un sér vivo, con propia autonomía, asociado á otros seres tan diminutos como él, para formar el cuerpo de los organismos. Por tan singular modo de ver, los cuerpos vivos quedaban reducidos á enjambres celulares, á simples colonias de ciudadanos, de cuya particular actividad resultaba la vida colectiva ó del Estado. Estas intuiciones de Turpin fueron el germen de la que, con el tiempo, había de ser la grandiosa teoría celular, la más alta y filosófica de las generalizaciones biológicas.

Las ideas de Turpin tuvieron gran eco en Alemania, donde se conquistaron las valiosas adhesiones de Schleiden y de Schwann. En Francia, Mirbel proclamó parecidas doctrinas. Mas ahora las pruebas afluían de todas partes. Dujardin, descubriendo los movimientos de la *sarcoda;* Meyen, Schultze, Hækel, dando á conocer la actividad de los protozoarios; Cohn, Nægeli, Truret, De Bary, etc., estudiando la vida de los zoosporos y plasmodias, dieron plena confirmación á las entonces arriesgadas afirmaciones de Turpin.

Faltaba aún, á pesar de tantas conquistas, aclarar un hecho de estructura, común á los vegetales y animales. En el cuerpo de la planta, no todo son células; hállanse tubos, fibras, materias intercelulares, disposiciones, en fin, aparentemente irreductibles al tipo celular, y sin cuya reducción sería forzoso admitir otros elementos de construcción de los organismos.

Dutrochet (1837), Hugo Mohl y Schleiden llenaron este importante vacío, demostrando que todos los elementos de la plan-

ta, aun los más distantes por sus diferenciaciones de la forma celular, son simples transformaciones de ésta, y concluyendo que no hay más que un tejido fundamental, el tejido celular.

Al célebre Schwann (1839) estaba reservada la tarea de generalizar ésta y todas las demás afirmaciones de la teoría celular al dominio de los tejidos animales. Estudió, con singular paciencia, los elementos de todos los tejidos, fundando la histología humana y la histogenia; explicó el origen de los elementos orgánicos, aplicando á la esfera animal la hipótesis de Schleiden sobre la generación blastemática de las células vegetales, é hizo resaltar con lógica vigorosa el papel fisiológico que la célula desempeña en la economía animal, con lo que creó, antes que Bernard, la fisiología general. Su célebre libro sobre *La conformidad de estructura y de desarrollo de los animales y las plantas* (1839), fué como el Génesis de las nuevas generaciones de anatómicos, y la potente savia que reanimó el cuerpo ya caduco de la vieja medicina, que oscilaba perpetuamente, sin norte ni medida, del humorismo al solidismo.

Con Schwann llegó la teoría celular de Turpin á todo su floreciente desarrollo. Abarcaba entonces los siguientes extremos:

1.° Existencia general en los animales y plantas de un elemento anatómico, corpúsculo esférico ó de otra forma, compuesto de membrana, contenido ó protoplasma, núcleo y nucleolo.

2.° Afirmación de que todos los tejidos (el vascular, el nervioso, el muscular, etc.) están formados de células, ya simples, ya transformadas.

3.° La de que las células son individuos vivos asociados entre sí para formar el organismo, cuyas funciones son la resultante de la peculiar actividad de aquéllas.

4.° La aseveración de que la célula se engendra en un *blastema ó citoblastema,* etc., por un acto de creación, por un fenómeno comparable á la formación de un cristal en una solución salina.

5.° Y el corolario patológico obligado: si la célula es solamente lo que vive en el órgano, ella será solamente susceptible

de enfermar, y, por ende, á ella exclusivamente será congruente conducir la acción medicamentosa ó quirúrgica.

Al calor de la nueva doctrina surgió una pléyade de entusiastas observadores que se entregaron con singular tesón á hojear el apenas entreabierto libro de la naturaleza viva. A virtud de estos trabajos fundáronse en breves años la histología animal, la histogenia, la fisiología celular, la histoquimia, la histología comparada, etc. Purkinje, Ehrenberg, Müller, Valentin, Wagner, Henle, Kölliker y Schültze, Remak y Leydig, fueron los que principalmente se distinguieron en estas laboriosas investigaciones, y condujeron la histología al grado de esplendor en que hoy se encuentra.

Al mismo tiempo, muchos histólogos convertían su actividad, ya ejercitada en el análisis de los tejidos, á una labor más transcendental: al estudio de la celulo-génesis, tan fértil en consecuencias fisiologico-patológicas.

Imperaba por entonces, respecto de este punto, la doctrina celulo-genética de Schleiden y de Schwann, anteriormente indicada, lo cual valía tanto como suponer la generación espontánea de las células. Según esta hipótesis, cada espacio intercelular es una especie de edén donde se repite el milagro del Génesis, según los caprichos del principio evolutivo orgánico. Corolario forzoso de este modo de ver era la negación de todo vínculo de parentesco entre las unidades vivientes, á despecho de la solidaridad de sus actividades y de la intimidad de sus relaciones anatómicas.

Alzáronse contra esta doctrina Remak (1852), y Virchow (1856), atacando vigorosamente la formación celular libre ó blastemática; fundándose el primero en el hecho por él descubierto de que todas las células de las esferas de segmentación del huevo dimanan de una sola, dentro de la cual se engendran por sucesiva segmentación, y apoyándose el segundo en numerosas observaciones de anatomía patológica que acreditan el parentesco real de los corpúsculos de toda neoplasia. Sólo que, en tanto que Remak afirmó su aforismo *omnis cellula in cellula*, Virchow, menos exclusivo, adoptó su célebre fórmula *omnis cellula e cellula*, es decir, toda célula procede de otra célula. Este

último apotegma se elevó á la categoría de principio biológico, y desde entonces consideróse la doctrina de la generación espontánea ó equívoca tan herética en histología como en zoología.

Las consecuencias del referido principio celulo-genético fueron notables en los dominios de la anatomía y fisiología patológicas. Los elementos del tubérculo, del cáncer, el pus, en una palabra, las células de toda neoplasia, se estimaron como progenie adulterada de las células normales, y las más de las teorías reinantes sobre el origen de los procesos morbosos generales desaparecieron ó se acomodaron al nuevo medio científico.

El libro de Virchow, sobre la patología celular, donde tan radicales ideas se exponían, adquirió en breve tiempo una popularidad sólo comparable con la que gozaron las obras de los grandes novadores sistemáticos de fines del antepasado y comienzos del pasado siglo. La novedad de la doctrina, los hechos innumerables en que la apoyó, el alto sentido filosófico que en ella palpitaba, la época en que vió la luz, época de transición, cuyo ambiente científico llevaba mezclados y confusos los errores del pasado y las verdades del porvenir, y hasta el talento polémico del autor, contribuyeron poderosamente al éxito grandioso conseguido.

En cuanto á la organización de la célula, el descubrimiento del nucleolo parecía ser el postrer esfuerzo del análisis anatómico.

Describíase el protoplasma como una materia blanda, sin estructura, sembrada de granulaciones, especie de magma constituído por la aglomeración de varios principios inmediatos. Pero he aquí que, en esta sencilla nebulosa, nuevos sistema se perciben, y surgen nuevos detalles, y toma cuerpo una nueva teoría del elemento orgánico: la teoría del *reticulum protoplásmico,* dentro de la cual engolfados estamos, y cuyos destinos futuros no es posible prever.

Mucho antes de que se formulara la doctrina reticular, habíanse trazado ya los primeros lineamientos de la hipótesis. Ya Stilling, en 1859, vió diseñarse en el contenido de las células

nerviosas una intrincada rejilla; Leydig mostró igualmente, en las gigantes células intestinales del cloporto, unas redes complicadas de finas hebras que surcaban la superficie de aquéllas. Heitzmann (1873), Flemming (1877 y 1883), Schleiden (1878), Strassburger (1880), completaron estos datos y describieron hilos y curiosas redes en el núcleo y en el protoplasma; y van Beneden, Boberi, Carnoy, Butschli, Henneguy, Hertwig, Boveri, Benda, etc., prosiguiendo tan curiosos estudios, han añadido importantísimos descubrimientos relativamente á las transformaciones que sufre el núcleo durante la partición celular, etc.

La observación revela, en efecto, en el reticulum extraños movimientos, sobre todo en la época de la segmentación del núcleo, cuyos filamentos se quiebran, sus trozos se doblan y convergen formando misteriosas estrellas; mostrando, en fin, una complicada dinámica, por cuyas actividades algunos citólogos trasladan casi íntegramente al dominio del reticulum toda la fisiología del protoplasma.

La observación de tan sorprendentes transformaciones, descritas bajo las designaciones de *kariokinesis, mitosis* ó *kariodieresis,* constituye, sobre todo, la gloria de Flemming (1878), el ilustre histólogo de Kiel.

Y no se piense que esta delicada urdimbre ha sido solamente revelada en la célula vegetal y en los más humildes representantes de la vida animal, porque también ha sido confirmada en los insectos, batracios, reptiles y hasta en los mamíferos, siendo lícito, por tanto, considerar tal estructura como carácter general de la composición del protoplasma. En las células nerviosas, según resulta de los trabajos de Apathy (1896), Bethe y otros, dicho retículo exhibe desusada finura, y está sujeto, verosímilmente (Cajal, Tello, 1904), á cambios importantes concomitantes de los procesos fisiológicos y patológicos.

Pero la organización íntima de la vida es inagotable, y así, conforme el micrógrafo profundiza en el análisis, descubre nuevos abismos y más amplios horizontes. El jugo celular que se creía homogéneo, contiene infinidad de esférulas independientes, descubiertas por Altmann (1885) y Ehrlich, y acaso dotadas, según quieren algunos, de cierta autonomía vital, cual los *leucitos*

de las células vegetales, formadores del almidón y clorofila y susceptibles de multiplicarse por escisión; no lejos del núcleo, van Beneden (1883) descubrió en el óvulo un cuerpo especial qué desempeña importantísimo papel en el mecanismo de la generación: el *centrosoma*, generalizado después á todos los elementos, gracias á las pesquisas de numerosos autores, entre los que conviene citar á Lenhossék y Heidenhain; Benda (1894) y Mevés (1908), han señalado en el protoplasma la existencia de ciertas granulaciones vivas, las mitocondrias, susceptibles de partirse y de generar curiosas figuras mitósicas; R. Heidenhain (1875), M. Heidenhain (1898), Nussbaum (1887), Langley (1879), Biedermann (1882), Orenaut (1905), etc., han revelado también en las glándulas la existencia de granos vivientes capaces de sintetizar principios inmediatos y de transformarse en grasa, mucina, zimógeno, melanina, etc.; en fin, recientemente Golgi (1898), Holmgren (1900), y otros muchos autores, han sorprendido primero en las células nerviosas, después en otras categorías de elementos, un retículo de mallas gruesas situado en torno del núcleo y que algunos autores estiman hueco, especie de cavidad digestiva anfractuosa, comparable quizás á la vesícula pulsátil de los infusorios.

Y la lista de los estupendos hallazgos no está todavía cerrada, dilatándose cada vez que la técnica se enriquece con un nuevo método analítico ó se perfecciona y amplía el poder resolutivo de las lentes.

En estos últimos tiempos, una labor porfiada, en gran parte crítica, amenaza sacudir hasta los cimientos de la teoría celular. Un conjunto de hechos é inducciones fisiológicas prestan cuerpo á la sospecha de que el protoplasma y el núcleo representan unidades de segundo orden, algo así como colonias y simbiosis de organismos fisiológicos más elementales, es decir, de seres metamicroscópicos, en gran parte desconocidos é invisibles.

Y estos descubrimientos han venido cuando algunos espíritus simplistas se complacían en imaginar el protoplasma como masa amorfa sin estructura, y sobre esta idea edificaban brillantes concepciones (Hæckel, Cl. Bernard, etc.). Cuando en su afán de simplificar la máquina de la vida y salvar el abismo que existe

entre el mundo inorgánico y el orgánico, se describían seres tan sencillos que carecían de núcleo y se los presentaba formados de una mezcla de albuminoides sin organización. Por desgracia, las *moneras* y *microbios* han resultado contener núcleos, membranas de cubierta y diferenciaciones protoplásmicas, quizás más complejas todavía que las halladas en las células federadas de los animales superiores.

En vano procuramos sujetar la naturaleza á nuestros cálculos, ella se ríe de nosotros y nos muestra en el límite de nuestra visión, allá en el confín de la nada con tantos esfuerzos entrevisto, nuevos horizontes y más dilatados panoramas.

Con harta razón criticaba Tyndall á los histólogos que, por no acertar á resolver con su microscopio una masa orgánica, la declaran incontinenti hialina ó desprovista de textura.

Forzoso nos será, después del fracaso de la doctrina protoplasmática, empezar otra vez la obra para satisfacer nuestra eterna aspiración á la unidad; trabajar con tesón y con firmeza en la resolución de los nuevos problemas que la naturaleza nos plantea, sin impacientarnos por señalar á las cosas un límite que, cuanto más lo perseguimos, más se nos escapa.

En el proceso histórico que acabamos de exponer, hemos visto la vida descentralizarse sucesivamente. Rechazada del organismo y del órgano por Haller y Bichat, se refugia en el tejido; Turpin y Schwann la sacan del tejido y la encierran en la célula; Hæckel y Bernard la arrancaron de la célula y la depositaron en el protoplasma; Frommann, Heitzmann y Flemming la arrebatan de este baluarte y la encarnan en el retículo; algunos, en fin, tratan aún de localizarla en la esférula elemental, bioblasto, microcima ó molécula biológica.

¿Dónde iremos á parar arrastrados por este afán incesante de fraccionar y de pulverizar la vida?

¿Cuál será el nuevo hogar que la ciencia del porvenir reserva para servir de albergue á esa llama vital siempre fugitiva, al soplo poderoso del progreso? (1).

(1) Esta breve reseña histórica de los progresos de la Anatomía general publicóse en la primera edición del *Manual de Anatomía general,* hace tiempo agotado.—Valencia, 1889.

CAPÍTULO III

Concepto de la célula. — Teoría celular. — Caracteres anatómicos de la célula.

Elementología ó *citología* es la sección de la anatomía general que se ocupa de los elementos anatómicos ó células.

Llámanse *elementos anatómicos* á las formas más diminutas, dotadas de vida individual, en que los tejidos se descomponen por disociación mecánica ó anatómica. Estas últimas formas, las unidades vivientes de Virchow, no son otra cosa que las células.

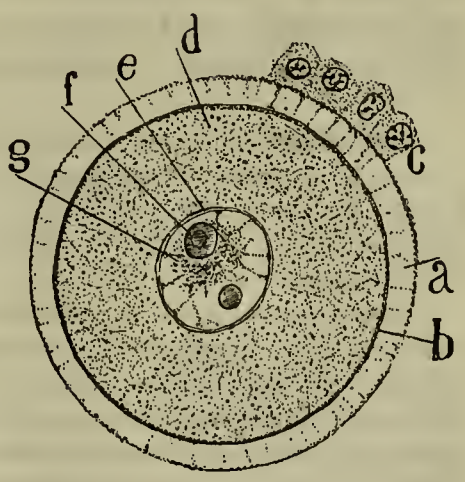

Fig. 70. — Óvulo casi maduro de coneja.—*a*, membrana aislable ó cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo.

Célula. — El concepto de célula ó de elemento anatómico ha experimentado en el transcurso del tiempo algunas variaciones, dependientes de los progresos incesantes de la técnica micrográfica. Los primeros observadores, cuyos estudios recayeron de preferencia en los vegetales, entendieron por célula un pequeño cuerpo vesicular, generalmente microscópico, compuesto de una membrana sólida y de un contenido líquido ó semilíquido, donde parecía flotar un corpúsculo, el núcleo (Schleiden, Schwann, Henle, etc.). Más adelante, habiendo sido observadas células exentas de membrana y hasta privadas de núcleo, modificóse el concepto de elemento anatómico, definiéndolo: una masa de protoplasma, provista comunmente de núcleo y dotada de vida propia. Pero

estas reservas descansaban en observaciones imperfectas. Los nuevos medios ópticos, así como los métodos de teñido de que hoy disponemos, permiten reconocer el núcleo en casi todos los microorganismos que se imaginaban formados de una simple masa de protoplasma (moneras, mixomicetos, bacterias, etc.), y apreciar la existencia, si no de una membrana aislable, de una zona periférica de protoplasma, condensada y exenta de granulaciones. Por donde ha venido á consagrarse la antigua noción de célula, pudiendo definirse actualmente: *un corpúsculo, generalmente microscópico, dotado de vida individual y formado de tres partes esenciales: el protoplasma, la membrana y el núcleo.*

Las células viven, ó en estado independiente y aislado (protozoarios, microbios, etc.), ó agrupadas en colonias, en las que la actividad de cada elemento se subordina al principio de la división del trabajo y á la conservación y reproducción de la entidad colectiva (plantas y animales superiores).

Teoria celular. — Iniciada, según dejamos dicho, por Tupin, Mirbel y Dutrochet, desarrollada notablemente por Schleiden, generalizada á todos los seres por Schwann, y completada bajo el aspecto genético por Remak y Virchow, comprende las tres proposiciones fundamentales siguientes:

Unidad anatómica de los seres. — Todos los organismos, tanto animales como vegetales, representan, en último análisis, ó células sueltas ó asociaciones de células El óvulo es una simple célula, y de células más ó menos transformadas resultan aún los tejidos más alejados en apariencia del tipo celular, tales como: el muscular, el vascular y el nervioso. Los materiales orgánicos situados entre los elementos anatómicos, suelen considerarse como productos de excreción ó desasimilación celular.

Unidad fisiológica.—La célula es un organismo en miniatura, un sér dotado de vida propia y encargado del desempeño de una actividad particular en la vasta federación del cuerpo de las plantas y animales. La función del órgano, por elevada y compleja que se la suponga, es siempre la resultante de los trabajos parciales ejecutados por las células.

Unidad de origen.—Las células no se engendran, como pensaban Schleiden y Schwann, en el seno de los tejidos vivos, por un acto de cristalización, sino en virtud de un fenómeno de *generación*, á la manera de los organismos independientes. Toda célula procede de

otra célula anterior, por simple partición ó segmentación del núcleo y protoplasma de ésta. El aforismo de Virchow *omnis cellula e cellula*, es verdadero hasta en el terreno patológico, pues las producciones morbosas derivan siempre de la segmentación de las células normales. Retrogradando en la serie de las segmentaciones que precedieron á la aparición de cada célula, llegaremos al óvulo mismo, de cuyas divisiones sucesivas resulta el organismo entero. Y como el óvulo y zoospermo proceden de otros elementos semejantes y preexistentes, la persecución de la filiación celular nos conduce á considerar todos los individuos de una misma especie como agrupaciones de pedazos, discontinuos en el espacio, pero continuos en el tiempo, de dos corpúsculos primitivos: el óvulo ó zoospermo de la primera pareja animal.

El estudio de la célula abarca dos especies de caracteres: los anatómicos y los fisiológicos.

CARACTERES ANATÓMICOS

Individualidad. — En general, las células componen los tejidos completamente separadas unas de otras; el contorno celular márcase por la presencia de la membrana ó por la interposición de substancias amorfas. Hay casos, no obstante, en que no aparece tan evidente la individualidad celular: tal ocurre en los corpúsculos epiteliales de la piel, cuyos protoplasmas se hallan unidos por filamentos anastómicos (fig. 74).

Si comparamos entre sí, desde el punto de vista de su individualidad, los diversos tipos de elementos constitutivos del reino animal, advertiremos una progresiva dependencia y solidaridad, conforme se asciende de los infusorios á los mamíferos. Bajo este aspecto cabría clasificar las células en cuatro categorías: *independientes, federadas, anastomosadas* y *plasmódicas*.

a) Independientes. — Son aquellas que, al modo de infusorios y microbios, constituyen seres aislados que deben proveer por sí á su alimentación. En los vertebrados, sólo los leucocitos pertenecen, y no enteramente, á esta categoría.

b) Federadas. — Son la mayoría de los elementos asociados para formar el cuerpo de plantas y animales (células nerviosas, musculares, epiteliales, cartilaginosas, etc.). Caracterízanse por exhibir membranas separatorias, carecer de anastomosis y alimentarse de jugos orgánicos preparados por otros elementos especialmente diferenciados para ello.

c) Anastomosadas.—Discrepan de las precedentes, por presentar puentes ó comisuras protoplásmicas que pasan á través del cemento intercelular (elementos conectivos, células tegumentarias, corpúsculos endoteliales, etc.). La anastomosis crea colonias celulares, grupos que suman su acción fisiológica; acaso sirva también para uniformar y facilitar los actos nutritivos de la colectividad asociada.

d) Plasmodiales. — En ciertos casos, los elementos funden sus protoplasmas en un todo continuo, generándose una masa celular gigante con numerosos núcleos, cada uno de los cuales rige y gobierna, para los efectos nutritivos y generativos. un territorio del material protéico común *(energida de Sachs).* Como ejemplos de células ó colonias plasmodiales, citaremos: un infusorio parásito de la rana *(opalina ranarum),* que posee cuerpo colosal y numerosos núcleos; las *plasmodias de los mixomicetos,* que constituyen masas gelatiniformes macroscópicas continuas salpicadas de núcleos; la *capa plasmodial* de la placenta (Duval, Beneden, etc.), conjunto de corpúsculos ectodérmicos llegados del embrión y fundidos por sus contornos, etc. Probablemente poseen también carácter plasmodial la célula muscular estriada y los osteoclastos, todos ellos provistos de numerosos núcleos.

Algunos autores, tales como Heitzmann, Rauber, Delage, Labbé, etcétera, suponen que el estado plasmodial precedió filogénicamente al estado de célula independiente. Restos de esta disposición ancestral serían todavía las anastomosis de los corpúsculos del embrión y los puentes comunicantes ó intercelulares de algunos tejidos adultos. Sin embargo, semejante doctrina, llamada del *simplasto,* no está basada en observaciones suficientes. La inmensa mayoría de las células federadas de los animales superiores, y señaladamente las nerviosas que alcanzaron el grado supremo de diferenciación, carecen de anastomosis, como carecen también de ellas los corpúsculos de tejidos relativamente sencillos (epitelio intestinal, cartílago, ganglios linfáticos, glándulas, etc.).

Volumen.—La talla de las células, generalmente microscópica, se mide por *micras* ó *milésimas* de milímetro (μ). Esta unidad de medida resulta todavía grosera cuando se trata de evaluar el tamaño de ciertos microbios, pues no llega siquiera á media milésima; así que los microbiólogos y hasta algunos histólogos utilizan, como unidad de tamaño, la *décima de milésima.*

La mayor parte de las células de los mamíferos (células epiteliales, conjuntivas, nerviosas, cartilaginosas, óseas, etc.), ofrecen una talla oscilante entre 12 y 30 μ. Pero existen también células menores y mayores.

Los elementos más diminutos del organismo son los granos del cerebelo (6 á 7 μ), las células de los ganglios linfáticos (de 5 á 5 ½ μ) y los hematíes de la sangre (7 μ). Figuran á la cabeza de los gigantes (en cuanto á longitud) las fibras musculares estriadas, cuya talla mide 2 á 6 centímetros, las fibrocélulas, que alcanzan más de una décima, y los prismas del cristalino, que llegan á varios milímetros. A pesar de semejantes estaturas, estas células no son visibles á la simple vista, á causa de su extrema delgadez. En cambio, los elementos esféricos gigantes, como el óvulo (2 décimas de milímetro) y las células ganglionares motrices (cerca de una décima), se discernen ya, aunque trabajosamente, á la simple vista, salvo el óvulo maduro de ave y reptil que afecta tamaño colosal (yema con su núcleo). De lo antecedente se infiere que para que un corpúsculo sea visible á la simple vista, es preciso que posea las tres dimensiones macroscópicas.

La dimensión de las células no está en razón ni directa ni inversa del tamaño de los animales. En general, cabe afirmar que, exceptuando los elementos nerviosos, las mayores estaturas celulares se hallan en las larvas de urodelo (tritón, galipato, salamandra, proteo, etc.) y en las de insecto (1).

Morfología celular. — Hay que distinguir la forma originaria y la forma definitiva ó adulta.

Forma originaria.—Las células de tejido afectan, en las primeras fases de su evolución, una figura más ó menos esferoidal, rara vez poliédrica. Así, las células conjuntivas son primitivamente esféricas, y en el estado adulto estrelladas y laminares; los hematíes embrionarios son esféricos también, transformándose, andando el tiempo, en discoideos; las células nerviosas presentan primeramente figura redondeada, luego piriforme (*neuroblastos* de His), y últimamente estrellada, etc.

(1) La talla de las células no traspasa jamás un cierto límite impuesto quizá por las necesidades de la nutrición. Es indudable, como indica Bullot, que los cambios gaseosos se efectuarán mucho mejor en los corpúsculos pequeños que en los voluminosos, y que un espesor considerable del protoplasma hubiera hecho imposible una rápida penetración del oxigeno y de las materias asimilables.

Forma definitiva. — Es sumamente variable y á menudo característica de cada tipo histológico. Las formas principales son: la *estrellada,* la *fusiforme,* la *discoidea,* la *prismática,* la *cúbica* y la *pavimentosa* ó laminar poligonal. En algunas células consérvase la primitiva figura esférica, por ejemplo, en los leucocitos y meduloceles.

Ignórase el mecanismo en cuya virtud las células adquieren sus formas definitivas. Se supone, no obstante, que influyen dos condiciones: el cumplimiento de las leyes evolutivas preestablecidas (no reductibles actualmente á procesos físico-químicos), y la influencia mecánica del medio.

Por *procesos mecánicos,* es decir, por consecuencia de la presión de cuerpos exteriores ó del crecimiento de corpúsculos vecinos, ó del choque de corrientes sanguíneas, puede en parte explicarse la forma aplanada de las células epidérmicas superficiales, la delgadez de los corpúsculos endoteliales de los vasos, la figura prismática de los elementos epiteliales del intestino, etcétera. La presión osmótica y la densidad de las materias intercelulares son también condiciones capaces de influir en la morfología celular.

En virtud de *evoluciones protoplasmáticas* de naturaleza enigmática, que acaso puedan con el tiempo asimilarse á la *quimiotaxis* de los leucocitos, crecen y afectan una forma estrellada particular los elementos nerviosos, su figura en huso los musculares lisos, su disposición abarquillada los elementos constitutivos de los segmentos medulares, etc., etc.

Consistencia. — Los elementos vivos poseen una consistencia blanda, semilíquida; pero los que han sufrido transformaciones químicas incompatibles con la vida celular, afectan á menudo una gran dureza. Mencionemos, á guisa de ejemplo, los elementos epidérmicos córneos, cuyo protoplasma se ha transformado en keratina, y los prismas cristalinos centrales metamorfoseados en globulina.

Elasticidad. — El protoplasma de las células vivas es poco elástico, aunque bastante extensible; pero el de las transformadas goza á veces de notable elasticidad (células córneas, hematíes, etc.).

Color. — Casi todas las células, examinadas aisladamente, aparecen transparentes y sin color; en masas algo espesas, se presentan turbias y translúcidas.

Pero se conocen corpúsculos cuyo protoplasma exhibe materias colorantes, ya disueltas, ya dispuestas en granitos. Por ejemplo: los hematíes se hallan teñidos por un albuminoide amarillo (la *hemoglobina);* los artículos externos de los bastones albergan un principio colorante purpúreo (la *foto-estesina);* las células melánicas encierran granos de un pigmento moreno (la *melanina,* etc.).

CAPÍTULO IV

CONTINUACIÓN DE LOS CARACTERES ANATÓMICOS DE LA CÉLULA — ESTRUCTURA

Membrana.—Banda de cierre.—Pestañas y flagelos.—Protoplasma.—Retículo ó espongioplasma.—Ergastoplasma.— Ectoplasma y endoplasma.

Examinada una célula típica, tal como el óvulo antes de comenzar su segmentación, nos presenta al examen micrográfico cuatro partes principales: la membrana, el protoplasma, el núcleo y el nucleolo.

MEMBRANA

Es una lámina transparente que envuelve exteriormente la célula, sobre la cual se diseña á menudo bajo la forma de un doble contorno.

Es preciso distinguir dos especies de membranas: la *cubierta fundamental* y la *cápsula de secreción*. Ningún elemento carece de la primera; en muchos no existe la segunda, pero en algunos preséntanse correctamente las dos.

La *cubierta fundamental* es una película finísima continuada con el protoplasma, del que puede separarse, ya mediante la disociación, ya bajo la influencia de las soluciones acéticas. Esta delicada membrana es la única visible en las células del cuerpo de Malpigio de la piel, en los leucocitos, mieloplaxias, células conectivas, corpúsculos nerviosos centrales, etc. (fig. 71, *m)*.

A causa de su extrema delgadez, muchos histólogos la han desconocido. Su estructura es ignorada, por más que algunos autores, M. Ide, por ejemplo, la reputen reticulada (membrana de las células de Malpigio).

La membrana fundamental es un órgano vivo de la célula destinado á contener el protoplasma y reglar los fenómenos osmóticos. Cuando el cuerpo celular encierra vacuolas, el líquido de éstas que-

da protegido del resto del protoplasma por finísima película *(tonoplasto)*.

Verosímilmente, y según veremos más adelante, la cubierta fundamental resulta de la reunión de partículas, especialmente diferenciadas, las cuales se condensan y reunen en corteza durante el fenómeno de la división del cuerpo celular *(dermatosomas)*.

Los autores que han negado la existencia de la membrana de ciertos corpúsculos (leucocitos, células nerviosas, etc.), no han reparado en que sin ella el protoplasma no podría retener los productos coloides solubles que contiene, ni se explicaría su relativa resistencia al influjo químico del medio.

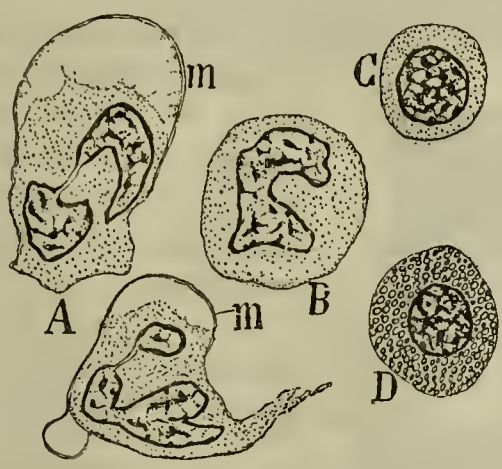

Fig. 71. — Leucocitos de la sangre teñidos en fresco mediante el verde de metileno. — A, célula cuyo protoplasma retraído deja ver en *m* una membrana finísima; D, célula cuyo protoplasma está lleno de granitos de inclusiones (granulaciones eosinófilas).

La cápsula ó *membrana de secreción,* se halla en el óvulo, en las células cartilaginosas y en el epitelio intestinal. El mejor objeto de estudio de las dos membranas celulares es el óvulo (fig. 70, *a)*. Alrededor del protoplasma se distingue una zona ó limbo transparente *(zona pellucida),* en la cual, á favor de buenos objetivos de inmersión, aparecen ciertas estriaciones perpendiculares interpretadas como conductitos que la atravesarían de parte á parte. Esta membrana es la *cápsula de secreción,* cuyo espesor aumenta con la edad del óvulo.

Inmediatamente debajo de la membran de secreción ó *zona pellucida,* se discierne una lámina granulosa obscura (fig. 70, *b),* íntimamente ligada al protoplasma y de espesor casi constante,

cualquiera que sea la edad del óvulo. Esta fina película representa la *cubierta fundamental.*

Las células llamadas epiteliales con chapa del intestino, revelan también, aunque no de modo tan evidente, ambas membranas. La cápsula de secreción está representada por la chapa estriada, y la cubierta fundamental por la línea granulosa subyacente.

Fisiológicamente la *cápsula* representa un órgano muerto, mero producto de secreción celular, como parece probarlo el hecho de que, durante la proliferación, todas las partes de la célula madre, menos la cápsula, se dividen para engendrar los elementos hijos. Excepto en el óvulo, en los demás elementos esta corteza denota un rebajamiento en la actividad nutritiva de la célula y la estabilidad ó inmovilidad del protoplasma.

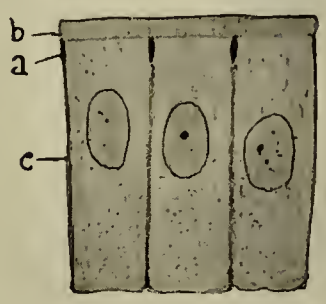

Fig. 72.—Grupo de células epiteliales del intestino esquematizadas.—*a*, banda de cierre; *b*, chapa intestinal; *c*, cemento intercelular.

Banda de cierre. — Se puede considerar como un refuerzo de la membrana fundamental ó como una cápsula de secreción incompleta, cierta placa de substancia dura que cierra por el lado de la superficie libre los intersticios de los corpúsculos epiteliales. Esta banda, descrita por Bonnet, Zimermann, Cohn, Prenant, etc., y llamada *Kitleisten*, ha sido reconocida en el intestino, corpúsculos hepáticos, elementos ependimales, etc. (fig. 72, *a*). Nosotros la hemos hallado también muy desarrollada en el esófago y piel del *Lumbricus* é *Hirudo,* donde forman elegante reticulación horizontal.

Membrana vegetal. — El corpúsculo vegetal posee recia cápsula de secreción, amén de finísima y apenas aparente cubierta fundamental. Semejante cápsula, muy refringente y á menudo homogénea, está constituída de celulosa y se caracteriza por varias reacciones interesantes: coloréase en azul por el cloroyoduro de zinc ó el yodo y ácido sulfúrico, fija intensamente los colorantes ácidos y se disuelve en el reactivo cupro-amoniacal. Un producto algo semejante á la celulosa es la recia cubierta exterior de que están armadas las células cutáneas de los artropodos (quitina).

Flagelos, pestañas y látigos.—Como apéndices ó accesorios de la membrana, pueden considerarse ciertos filamentos libres, generalmente movibles, que erizan la cubierta celular de muchos protozoarios y de algunas células epiteliales y corpúsculos seminales de vertebrados é invertebrados. Cuando tales apéndices son finísimos, numerosos y cortos, toman el nombre de *pestañas* (células epitélicas de las vías aéreas, etc.); llámanse *flagelos* si son escasos y largos (bacterias, infusorios flagelados, etc.); en fin, toman la designación de *látigos* cuando son únicos y larguísimos, semejando, por sus ondulaciones y longitud, la cuerda terminal de una fusta (ciertos infusorios, como la *Euglena viridis,* los zoosporos de muchas algas, los *microgametos* de las coccidias, los zoospermos de los vertebrados, etc.). Como luego veremos, existen flagelos especiales que parten de un órgano de la célula: el centrosoma.

PROTOPLASMA

La voz *protoplosma* (de πρῶτος, primero, y πλάσσειν, formar), introducida en el lenguaje anatómico por H. Möhl, no expresa actualmente lo que significó en un principio. En vez de *primera formación,* designa ahora, por acuerdo general de los histólogos, esa masa transparente, granulosa, semisólida, que separa el núcleo de la membrana.

El protoplasma existe en toda célula viva, y representa acaso el factor más importante de la composición de la misma. Examinado á medianos aumentos y en corpúsculos tratados por los reactivos fijadores, aparece como una substancia incolora y delicadamente granugienta, donde apenas cabe distinguir ningún detalle de estructura. Pero los buenos objetivos de inmersión, sobre todo si se aplican al examen de objetos favorables, revelan un gran número de partes ú órganos elementales.

Estas partes protoplásmicas, cuyo número crece de día en día al compás del perfeccionamiento de la técnica, representan órganos diferenciados, destinados, en virtud del principio de la división del trabajo, á ejercitar actividades diversas, encaminadas al mantenimiento y multiplicación de la vida celular.

El número de estos organitos impone la necesidad de su clasificación, para la cual cabe escoger una base fisiológica. Con arreglo á su categoría funcional y á su grado de autonomía

vital, podrían los citados órganos microscópicos clasificarse en estos tres grupos:

1.° Partes exentas de vida y que satisfacen de preferencia exigencias del orden vegetativo. Son éstas: el jugo celular ó citoplasma, las granulaciones de fermento y cromáticas, las inclusiones y los vacíos intraprotoplásmicos, tales como las vacuolas y los tubos de avenamiento, etc.

2.° Partes dotadas de vida propia, pero subordinada al conjunto orgánico de la célula, capaces de asimilación y crecimiento, y no exentas, comunmente, de poder divisorio. A este orden pertenecen: el retículo de las células poco diferenciadas, las fibrillas de las células diferenciadas (miofibrillas, neurofibrillas, filamentos de engastoplasma, etc.), las radiaciones de las figuras mitósicas, el aparato reticular de Golgi, etc.

3.° En fin, *organitos* ó *biomeras* de superior jerarquía fisiológica, verdaderas unidades vitales de segundo orden, susceptibles de crecimiento y reproducción individual, que se congregan, según sus especies, en el protoplasma y núcleo. Las biomeras protoplásmicas son: la *esfera atractiva y centrosoma, las mitocondrias* y verosímilmente también las *granulaciones glandulares primarias*. En el núcleo habitan las *cromiolas* ó granos de cromatina.

Retículo *(espongioplasma* de Hanstein, *mitom*—de μῖτος, hilo—de Flemming). — En el protoplasma hay una parte sólida, contráctil, probablemente fibrilar, que no puede discernirse claramente en todas las células, ora por consecuencia de la insuficiencia de nuestros medios ópticos, ora por causa de la abundancia de inclusiones. Practicando el examen en elementos de gran talla, tales como los gigantes de la médula espinal, las robustas células del intestino de la cochinilla de humedad, las no menos voluminosas de las larvas del urodelo ó de insecto, se reconoce fácilmente que dicho protoplasma fundamental está representado por trabéculas refringentes, flexuosas, más ó menos robustas, que arrancando de la membrana nuclear, donde parecen insertarse, se terminan, después de un curso intrincado, debajo de la cubierta celular. No es posible perseguir totalmente el curso de cada fibra ni discernir con entera claridad sus rela-

ciones; de aquí ha nacido la diversidad de dictámenes relativamente á la estructura del retículo. En algunos casos, las fibras parecen engendrar una red; pero esta disposición (aceptada como hecho positivo por Klein, Frohmann, Heitzmam, Carnoy, etc.),

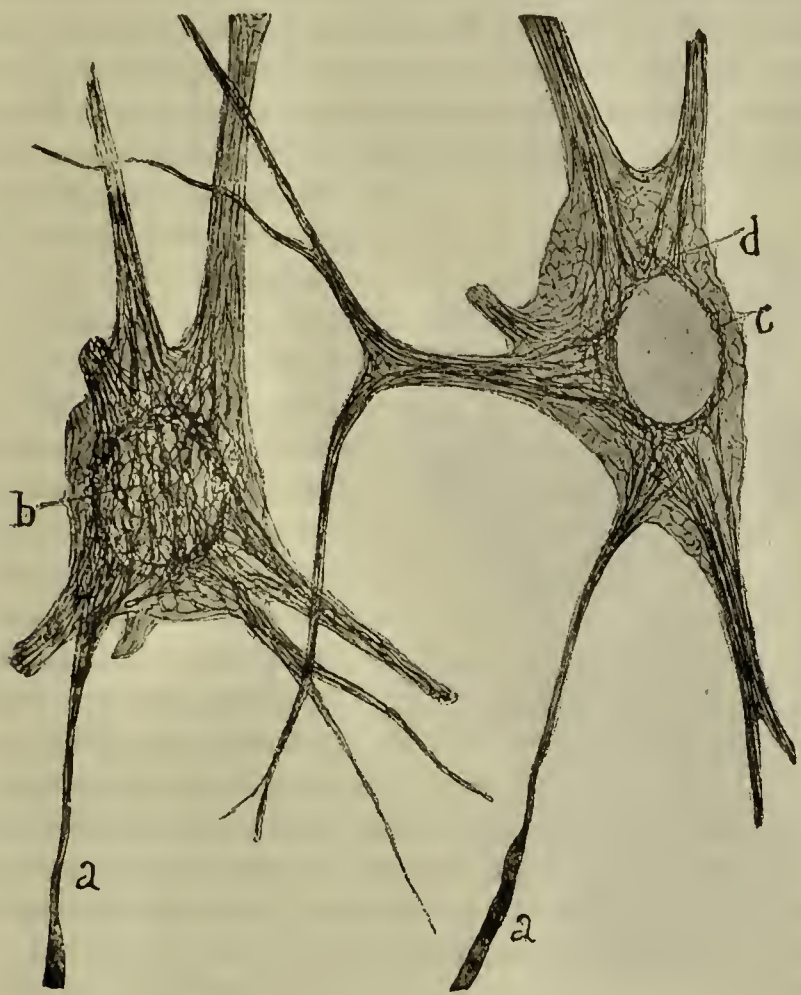

Fig. 73. — Retículo específico de las células nerviosas (gato joven). — *a*, cilindro-eje; *b*, haces de fibrillas existentes en las expansiones celulares.

no resulta nunca tan evidente que no deje lugar á dudas. Es innegable que, en la hipótesis de un armazón formado por filamentos independientes, podría explicarse también la apariencia de red, suponiendo íntimos contactos y entrecruzamientos entre aquéllos.

En el hombre y mamíferos superiores existen células donde el armazón protoplasmático se percibe con relativa facilidad. Las mejores, bajo este concepto, son los elementos del epidermis cutáneo y las gruesas células nerviosas.

En las células epiteliales de la piel (fig. 74) se ven partir del armazón protoplásmico finos hilos, los cuales, después de atravesar el cemento intercelular, se prolongan con los filamentos de los elementos vecinos. La impresión que el examen de este armazón produce, es la que suscitaría la existencia de haces de filamentos que cruzasen el protoplasma sin anastomosarse en su camino.

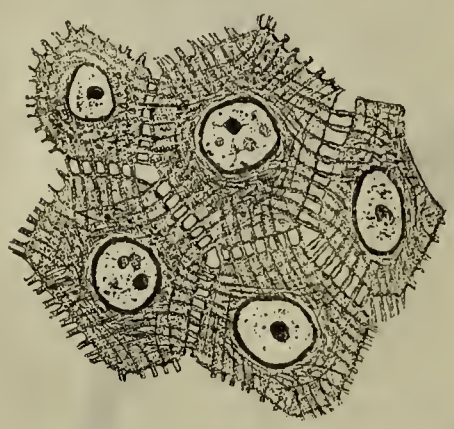

Fig. 74.—Células epidérmicas del cuerpo de Malpigio de la piel. Adviértese en el protoplasma la existencia de hilos que pasan de un elemento á otro.

Hilos comunicantes se han hallado también en los epitelios prismáticos. Así, según Heidenhain, en la salamandra los corpúsculos epitélicos del intestino están unidos mediante un sistema de hilos tanto más largos cuanto más se alejan de la superficie celular libre. Puentes análogos han sido observados por nosotros en los endotelios.

Kinoplasma y ergastoplasma. Miofibrillas y neurofibrillas. —El armazón celular que dejamos estudiado puede considerarse como la forma general y primitiva del aparato motor del protoplasma, del *trofoplasma* para emplear una expresión de Strasburger.

Mas en los corpúsculos adultos y adaptados al desempeño de actividades especiales, existen, además del citado armazón primordial más ó menos velado ó modificado, otros filamentos que podrían llamarse *armazón funcional,* porque están dotados de propiedades químicas especiales y realizan actos fisiológicos específicos, frecuentemente de orden motor.

Estos esqueletos ó urdimbres funcionales han recibido nombres diversos, según las células en que se hallan y el papel fisio-

lógico que se les asigna. A estas categorías de filamentos pertenecen:

1.° El *kinoplasma* de Strasburger, es decir, esos hilos radiados constitutivos del huso acromático durante la mitosis, y los que se disponen en corona en torno de las esferas atractivas durante los fenómenos de la profase mitósica.

2.° El *ergastoplasma* de Bouin y Garnier, bajo cuya denominación se comprenden principalmente esas formaciones bacilares de composición química peculiar constantes en la porción basal del protoplasma de muchas células glandulares (glándula submaxilar, riñón, etc.).

3.° Las *miofibrillas,* hilos finísimos paralelos, dotados de estructura articulada y de actividad contráctil, residentes en las fibras musculares estriadas ó de la vida de relación.

4.° Y las *neurofibrillas*, aparato filamentoso reticulado característico de la célula nerviosa y sus expansiones, formado por una materia específica ávida de la plata coloide, y que experimenta, quizás, variaciones, durante la producción del impulso nervioso (fig. 73, A, B).

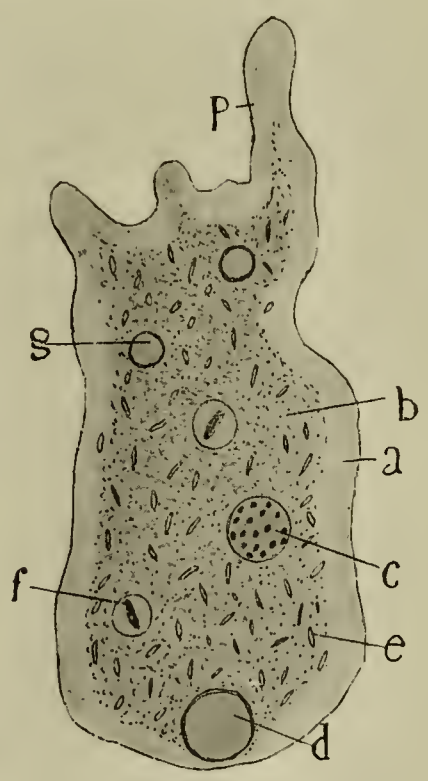

Fig. 75. — Un amibo (según Delage). — *a*, ectoplasma; *b*, endoplasma; *c*, núcleo; *d*, vesícula pulsátil; *g*, vacuolas gaseosas; *f*, vacuolas alimenticias; *e*, productos secretorios.

Ectoplasma y endoplasma. — En algunas células diferenciadas de los animales superiores, tales como las musculares y neuróglicas, las mieloplaxias de la médula ósea y algunas glandulares, distínguense en el protoplasma dos zonas: una exterior más ó menos delgada y granulosa, desprovista de inclusiones, y otra profunda, donde se contienen las inclusiones y las partes funcionalmente diferenciadas (hebras neuróglicas, fibrillas musculares primitivas, granos de zimógeno y productos segregados, etc.). La

zona exterior ó cortical ha tomado el nombre de *ectoplasma* y de *endoplasma* la profunda ó principal.

Ambas zonas del protoplasma aparecen muy bien diseñadas en los protozoarios, en los cuales el ectoplasma exhibe textura compacta y activos movimientos amiboides, mientras que el endoplasma, relativamente pasivo, contiene las inclusiones, el núcleo y la vesícula pulsátil (fig. 75, *a, b*).

CAPÍTULO V

Jugo celular ó enquilema. — Esfera atractiva y centrosoma. Mitocondrias. — Granulaciones coloreables en vivo. — Gránulos glandulares. Productos de secreción. — Inclusiones.

Jugo celular, enquilema ó hialoplasma. — Es la materia líquida ó semilíquida, perfectamente amorfa, alojada en los espacios del retículo. Después de la muerte, y bajo la acción del alcohol, ácido crómico, ósmico, etc., el enquilema sufre coagulaciones que le prestan aspecto granuloso.

Esfera atractiva y centrosoma.—Los trabajos emprendidos hace algunos años por van Beneden, Boberi, Flemming y Rabl, tocantes á la maturación y conjugación del óvulo, han permitido hallar en el protoplasma un nuevo órgano, llamado *corpúsculo polar* por E. van Beneden, *centrosoma* por Boberi, *centriolo* de Heidenhain, *diplosoma* (cuando forma pareja) de otros autores. Se trata, generalmente, de un corpúsculo esférico de pequeñísima talla, muy refringente y poco afine de las materias colorantes de la cromatina; yace cerca del núcleo, á menudo en contacto con la membrana de éste. En ciertos casos, aparece rodeado de una masa de protoplasma correctamente limitado del resto del cuerpo celular *(esfera atractiva* de van Beneden, esfera de *centroplasma* de Heidenhain) y, á distancia, de una radiación de filamentos *(aster)*.

En un principio habíase creído que el centrosoma representaba un órgano peculiar del óvulo en vías de segmentación; pero los estudios de van Beneden, de Rabl, de Flemming, de M. Heidenhain y de Lenhossék, han generalizado á casi todos los elementos la existencia de este singular corpúsculo, cuya misión parece ser iniciar el movimiento de segmentación kariokinética de la célula y presidir á la contracción y metamorfosis del armazón protoplásmico.

El centrosoma ha sido estudiado por Flemming (1891) en las células linfáticas, epiteliales, endoteliales y conjuntivas de las larvas de la salamandra; por Solger (1892) en las células pigmentarias del sollo (donde sólo se hallaría la esfera atractiva con radiaciones); por Martín Heidenhain (1893), y con ayuda de un método particular de teñido (hematoxilina y decoloración con percloruro de hierro), en las mieloplaxias de la médula ósea y linfocitos del conejo; por Bremer (1895) en los glóbulos rojos nucleados de los vertebrados inferiores; por v. Lenhossék (1895) en las células de los ganglios raquídeos de la rana y en las fibras musculares lisas (1899); por Dehler (1895) en los corpúsculos simpáticos de este mismo animal; por Zimermann, Lenhossék, Henneguy, etc. (1900 á 1905), en diversos corpúsculos glandulares y epiteliales; por Achúcarro, en las células neuróglicas, etc. (1912). En fin, algunos botánicos, entre ellos Nemec, han sorprendido también en las plantas un órgano homólogo del centrosoma (1897). Es muy probable que dicho órgano se halle en todo elemento susceptible de proliferación, por lo cual carecerían de él las células nerviosas de los vertebrados superiores, incapaces, según resulta de muchos trabajos, de fenómenos degenerativos.

Fig. 76. — Leucocito de larva de salamandra maculosa, según Flemming. — En el protoplasma, cerca del núcleo, se ve el centrosoma.

Número de centrosomas. — Se creyó en un principio que toda célula contiene un centrosoma específico, situado cerca del núcleo, y, en efecto, así ocurre en algunos elementos (fig. 76); mas como las modernas investigaciones de Heidenhain, Lenhossék, Meves, etcétera, nos enseñan, la regla general es que cada célula posea una pareja de centrosomas *(diplosoma)*. Sin embargo, en los gruesos corpúsculos de núcleo arriñonado ó dispuesto en cadena complicada, de que son buen ejemplo las mieloplaxias de la médula ósea *(megalocariocitos)*, los centrosomas ó centriolos son numerosos, oscilando entre 5 y 12 ó más (fig. 78, *a*).

El *tamaño* del centrosoma es pequeñísimo, exigiendo para su percepción el empleo de los mejores apocromáticos, amén de procederes específicos de teñido. Según Heidenhain, su diámetro suele ser de 0'4 μ, igualando poco más ó menos el volumen

de los gránulos de los cromosomas y de los más delicados organitos intraprotoplásmicos.

Forma. — De ordinario es esférica y, según dejamos apuntado, reúnense á menudo en pareja ó diplosoma (fig. 77, *a*). Excepcionalmente afectan figura de bastoncito ó de doble bastón en forma de V (espermátidas de ciertos insectos).

Situación. — En general, habita el centrosoma en la proximidad del núcleo, aunque á variable distancia. En los leucocitos y mieloplaxias, cuyo núcleo presenta escotaduras, este órgano habita en la concavidad nuclear (fig. 78). Mas es también frecuente sorprenderlo lejos de

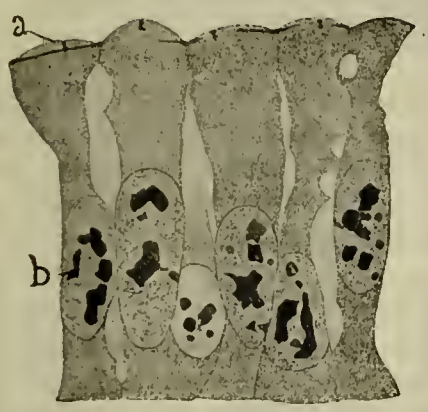

Fig. 77. — Células epiteliales del intestino de un embrión de pato. — *a*, centrosomas superficiales; *b*, núcleo. (Según Heidenhain).

Fig. 78. — Mieloplaxia *(megalocariocito)* de la médula ósea del conejo. — *a*, grupo de centrosomas situados en la concavidad del núcleo; *b*, exoplasma profundo; *c*, exoplasma superficial. (Según Heidenhain).

este órgano y aun en la frontera celular. Así, en los epitelios, y particularmente en los de tipo prismático, dicho organito, dispuesto en diplosoma, yace (figs. 77 y 79, *a*) en el cabo superficial de la célula, no lejos de la superficie libre y orientado axialmente, es decir, con el eje paralelo al de la célula.

Centrosomas con pestañas. — Una curiosa observación sugeridora de concepciones interesantes tocantes á la significación del centrosoma, ha sido hecha por Zimermann, recibiendo con-

firmación de numerosos autores. En las células epiteliales del riñón del torpedo, en las células homólogas de la salamandra y de otros vertebrados, en el epitelio espiral de la *coclea* del conejo de Indias, etc., aparecen células epitélicas, de cuyo diplosoma, superficialmente emplazado, brota largo y sutilísimo flagelo, tan sutil, que resulta á menudo dificilísimo de percibir. Este flagelo, verosímilmente inmóvil, flota en el líquido inmediato y tiene su punto de implantación en el centriolo más periférico (fig. 79, *a*).

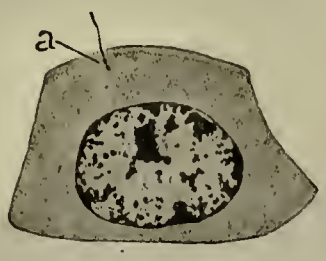

Fig. 79. — Célula epitelial de los tubos renales de la larva de salamandra. — *a*, diplosoma ó doble centrosoma, uno de los cuales emite un flagelo. (Según Meves).

Como más adelante veremos, el filamento caudal de la cola de los zoospermos va también unido á un centrosoma que presidió á su formación (fig. 80, *c*).

Estos hechos, junto con la ausencia de centrosomas aparentes en los corpúsculos pestañosos ordinarios, han servido de base á la hipótesis de Lenhossék y Henneguy, según los cuales el centrosoma representa el centro kinético de la célula, el órgano que regula la acción de los apéndices movibles (pestañas, flagelos, etc.), de todo corpúsculo epitélico ó espermático. Si hasta ahora tales granos no se han encontrado en los corpúsculos pestañosos ordinarios, ello depende de que se han buscado fuera de su lugar habitual. Para Lenhossék y Henneguy, los centriolos existen tanto en los corpúsculos de flagelo solitario estudiados por Zimermann, Meves, etc., como en las células de pestañas vibrátiles de los vertebrados, sólo que en éstas estarían constituídas por el gránulo basal, subpestañoso, cuya morfología y reacciones coincidirían enteramente con las de los centriolos.

En la figura 81 reproducimos el dibujo muy sugestivo dado por los citados autores en apoyo de su tesis.

Esta hipótesis es combatida por Heidenhain (1909), alegando que dichos granos basales son cosa diferente que los centriolos (éstos yacerían en el protoplasma, los citados granos en la membrana), y que si bien se hallan á menudo células sexuales con flagelos insertos en centriolos, existen también corpúsculos provistos de cilias y flagelos independientes del centrosoma.

En sentir de Heidenhain, la esfera y centrosomas vendrían á ser el centro morfológico de la célula, y si no forman el centro geométrico,

es porque el núcleo, obrando como cuerpo extraño, ha rechazado dicho corpúsculo, así como el *aster,* hacia la periferia. Esta doctrina carece de valor general, pues según acabamos de ver, en los epitelios los centrosomas son periféricos.

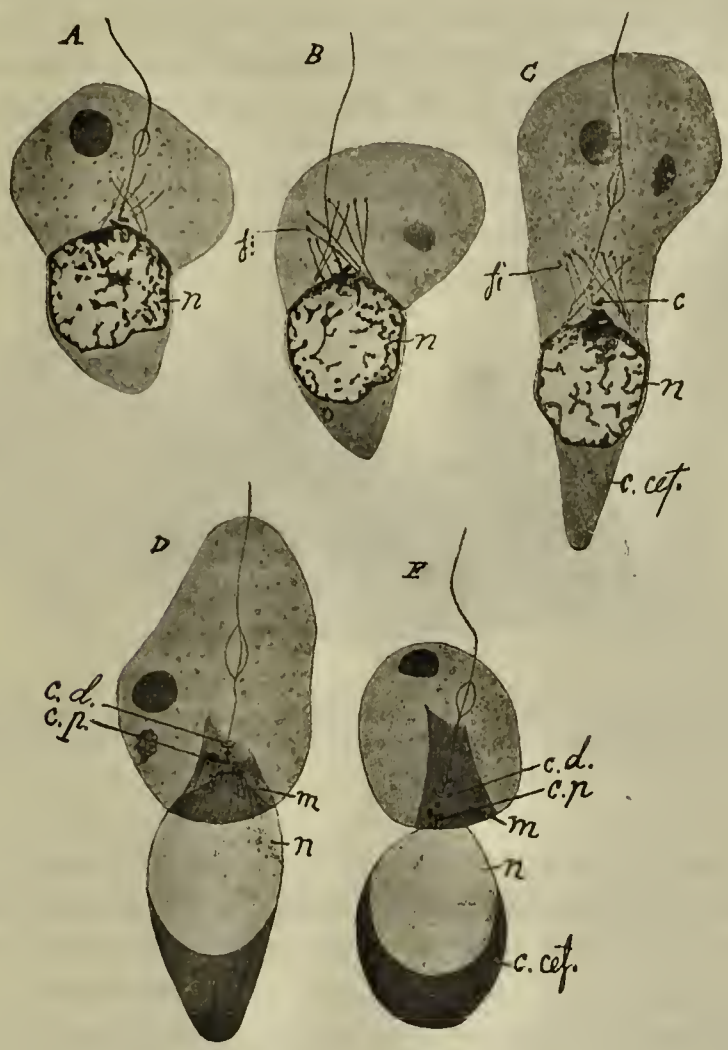

Fig. 80.—Espermátida del *Helix pomatia* en diversas fases de su evolución según Korff. En las fases tempranas A, B, C, etc., se advierte un diplosoma cuyo centriolo, más periférico, emite largo flagelo. En las fases D, E, F, etc., nótase que el centriolo profundo produce otra prolongación que crece dentro del protoplasma hasta tocar el núcleo. (Tomado de Korschelt y Heider).

Conforme veremos más adelante, el centrosoma desempeña importante papel en la multiplicación celular, entrando en división é iniciando los fenómenos de transformación del protoplasma y núcleo.

Granulaciones glandulares. — Investigaciones modernas, en las cuales han tomado parte muchos fisiólogos é histólogos (R. Heidenhain, E. Schültze, Landowsky, Nussbaum, Ebstein, Grutzner, Langley, Kuhne y Lea, Nicolai, E. Müller, M. Heidenhain, etcétera), han revelado en las células glandulares productoras de fermentos, así como en las glándulas serosas y mucosas dos órdenes de granulaciones: las *finas ó gránulos primarios* y las *gruesas ó esferas de zimógeno.*

a) Las *granulaciones primarias,* designadas también *plasmosomas* (Arnold), *plastidas* (Prenant), etc., son esferas pequeñísimas, de naturaleza protéica y sin tendencia á confluir.

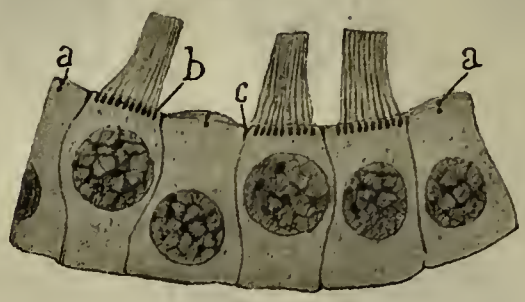

Fig. 81. — Células epiteliales ciliadas y células no ciliadas, éstas provistas de centrosomas superficiales, del epidídimo del conejo. — *a,* centrosomas; *b,* gránulos subpestañosos semejantes á centrosomas; *c,* banda de cierre. (Según Lenhossék).

Poseen talla oscilante entre 0'1 y 0'4 de μ; apetecen poco ó nada los agentes colorantes ordinarios, aunque se tiñen á veces por el método de coloración vital (Arnold) y gozan de la virtud de crecer por asimilación, de sintetizar principios inmediatos y, conforme algunos admiten también, aunque sin pruebas decisivas, de multiplicarse por división. Semejantes granulaciones han sido halladas en las células de las glándulas salivales, en el páncreas, en las glándulas serosas, células caliciformes del intestino, glándulas pépsicas, adipoblastos, etc. (fig. 82).

b) Granos de zimógeno. — En virtud de un proceso de crecimiento y diversificación química, la granulación primaria, primeramente poco coloreable, se transforma en esfera relativamente gruesa, impregnable por los métodos de Altmann, el de

la hematoxilina ferruginosa, ciertas anilinas, etc. Tal es el grano de *zimógeno,* que si en sus fases iniciales conserva cierta actividad vital, puesto que crece por asimilación, más tarde, es decir, llegado á plena madurez, simplifica su estructura molecular, convirtiéndose en una substancia muerta, en una verdadera inclusión protoplasmática. La disolución progresiva del zimógeno en el líquido glandular origina al fin el *fermento segregado* propiamente dicho (pepsina, pancreatina, tripsina, diastasa salival, etc.) ó el pro-

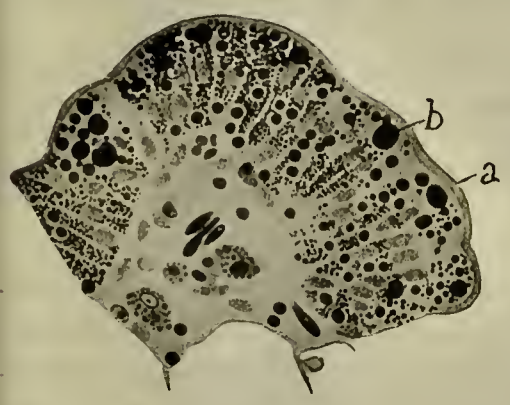

Fig. 82. — Epitelio de las vellosidades intestinales del conejo alimentado con leche. Coloración por el ácido ósmico.—*a*, chapa epitelial; *b*, gruesas gotas de grasa superficiales. Las finas granulaciones profundas corresponden á las *granulaciones glandulares primarias* y su misión es sintetizar la grasa descompuesta en el intestino y en la célula. (Según R. Heidenhain).

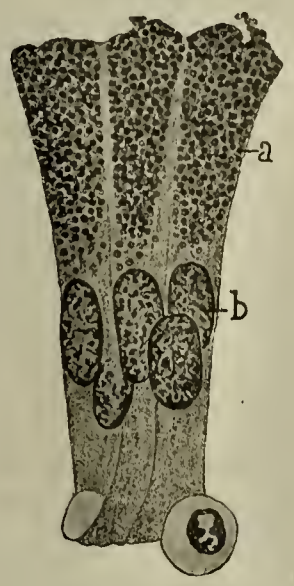

Fig. 83. — Epitelio superficial del estómago del hombre. Fijación con la mezcla de sublimado y ácido ósmico. Coloración con el violado de genciana.—*a*, gránulos de mucígeno; *b*, núcleo. (Según M. Heidenhain).

ducto especial elaborado *(grumos de mucina,* de materia albuminoide en las glándulas serosas, de grasa en los adipoblastos, etc.) (fig. 83, *a).*

Al tratar de las glándulas daremos algunos detalles acerca de las metamorfosis de las granulaciones glandulares.

Plasmosomas ó leucitos de las células vegetales. — Las células vegetales jóvenes encierran, al modo de los corpúsculos glandulares mencionados, diversas granulaciones específicas, dotadas de vida relativamente autónoma, puesto que son capaces de crecer por asimi-

lación y de multiplicarse por escisión. La misión principal de estos *leucitos ó plasmosomas* consiste en sintetizar principios inmediatos, tales como la *clorofila,* el *almidón,* las *materias colorantes,* las *grasas*, etc. Según cual sea el principio inmediato elaborado, toman dichas esferas las designaciones de *cloroblastos, amiloblastos, hidroleucitos,* etc.

Como los plasmosomas glandulares antes descritos, pasan los leucocitos vegetales por dos fases, la de *granulación primitiva* ó partícula protéica viviente, pequeñísima, dotada del poder de multiplicación y sin diferenciación química apreciable, y la de *transformación química,* durante la cual el gránulo crece, adquiere propiedades específicas y pierde su virtud proliferatoria, convirtiéndose al fin en una inclusión celular, despojada de todo resto de protoplasma viviente.

Tanto los plamosomas de la célula animal, como los leucocitos de la vegetal, deben estimarse como porciones separadas ó independientes del protoplasma, que se diferenciaron para la producción de principios inmediatos, y que sucumbirán al transformarse en productos celulares específicos.

Mitocondrias. — Con ayuda de un proceder de coloración específico, Benda descubrió en las células testiculares de diversos animales unos granos esparcidos por el protoplasma, coloreables intensamente por el *kristal-violett* y que tienen la propiedad de reunirse y alinearse durante las fases tardías de la formación del zoospermo para constituir el filamento espiral de éste. Más tarde, van der Stricht confirmó la existencia de tales gránulos en el óvulo de diversas especies animales y, finalmente, Meves (1908-1913), que ha efectuado un estudio concienzudo de los citados granos, ha demostrado que son un factor normal de la constitución del protoplasma de todas las células del embrión y de gran parte de los corpúsculos adultos. En fin, en estos últimos años, los discípulos de Benda y Meves descubren las mitocondrias en casi todos los elementos histológicos. Para Nageotte (1911), hallaríanse hasta en los tubos nerviosos, las neuronas y las células de neuroglia. Achúcarro y nosotros las hemos confirmado también en estos últimos elementos (1913), con ayuda de nuevos métodos de teñido.

Lo que presta particular interés al estudio de las mitocondrias es que durante las mitosis que preceden á la formación del zoos-

permo (espermátidas) se disponen en curiosas figuras que semejan á las de los cromosomas y que revelan que la naturaleza, al repartir tales gránulos en las células hijas, procede con la misma pulcra exactitud que al distribuir en los núcleos hijos filamentos cromáticos. Estas curiosas figuras, de que hablaremos más adelante, han sido estudiadas por Meves en las cé-

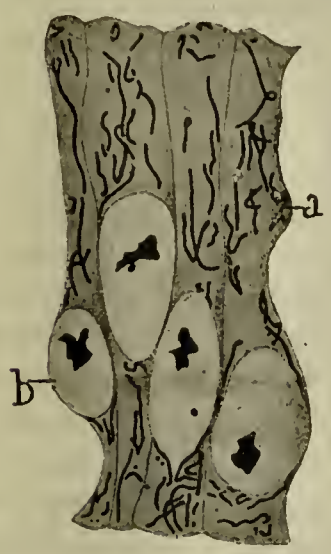

Fig. 84. — Condriomitos de las células intestinales de un embrión de pollo á los dos días de la incubación. — *a*, condriomitos ó hilos mitocondriales; *b*, núcleo. (Según Meves).

Fig. 85. — Condriomitos de la pared del surco medular (esbozo del sistema nervioso) del embrión de pollo, á las veinte horas de la incubación. *a*, condriomitos de un corpúsculo epitelial; *b*, los de una célula mesodérmica; *c*, los de un corpúsculo nervioso en fase germinal ó mitósica. (Según Meves).

lulas seminales (espermatocitos) de la *Paludina vivípara*.

Las mitocondrias afectan, á veces, forma de grano redondo; pero más á menudo, como Meves hace notar, adoptan la figura de bastoncitos de variable longitud. De ahí la designación de *condriomitos* y *mitocondrias* (1), designación que Meves (1911) ha sustituido recientemente por las de *plastosomas* y *plasto-*

(1) *Mitocondrias* quiere decir *granos integrantes de hilos*, y *condriomitos* hilos resultantes de la aglomeración de gránulos.

contes. Según Benda, yacerían en el espesor de un sistema de filamentos plasmáticos incoloreables, aserción que no se ha confirmado, antes bien, si hemos de fiar de las observaciones de Meves, Heidenhain y otros, encuéntranse libres en los espacios del espongioplasma. En cambio Retzius (1913) que las identifica con los *microsomas* de Flemming, las dibuja como empotrada en el espesor de filamentos pálidos. En ocasiones, las mitocondrias se organizan en un sistema de redes ó asas que rodean la esfera atractiva.

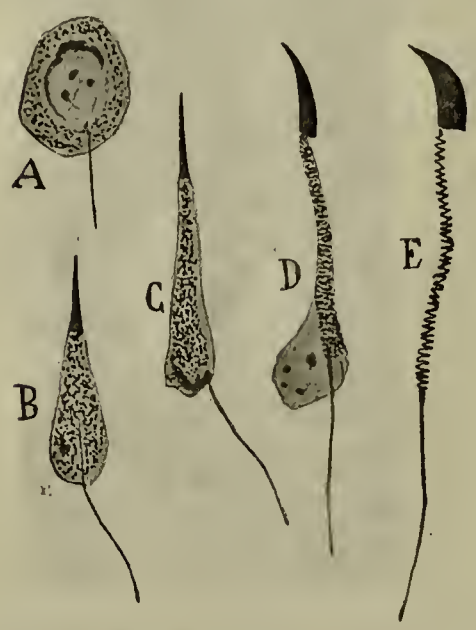

Fig. 86. — Evolución de las mitocondrias del ratón durante la transformación de una espermátida en zoospermo (según Benda y Waldeyer). Los gránulos mitocondriales sueltos en A, B, C, se disponen en series en D, y en la fase E se transforman en un filamento espiral.

Las mitocondrias contienen una substancia química especial, según resulta de su coloración específica por el método de Benda *(kristal-violett)*, previa enérgica fijación en el líquido de Flemming, y de su afinidad, en condiciones técnicas especiales, de por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain ó el método de la plata (véanse métodos de Meves, Regaud, Achúcarro, etc.).

Las interesantes figuras kinéticas descubiertas por Meves durante la división de los espermatocitos; la circunstancia de habitar tales filamentos en todas las células vivas y, en fin, el hecho demostrado por este sabio (1909) de que los *condrosomas* (granos de la substancia mitocondrial) del zoospermo y el óvulo participan en la fecundación, repartiéndose en el embrión por el protoplasma de todos los elementos, dan á la mitocondria una dignidad fisiológica muy superior á la de las inclusiones ordinarias de la célula, y prestan cierta verosimilitud á la hipótesis, sugerida por Meves, de que dichos órganos intra-

protoplasmáticos constituyen la materia de la herencia, con igual ó mejor título que la cromatina nuclear. (Véase más adelante).

No es posible, sin embargo, asentir sin reservas á la doctrina de Meves, Duesberg, etc., según la cual las mitocondrias de los corpúsculos del embrión representarían los gérmenes del retículo espe-

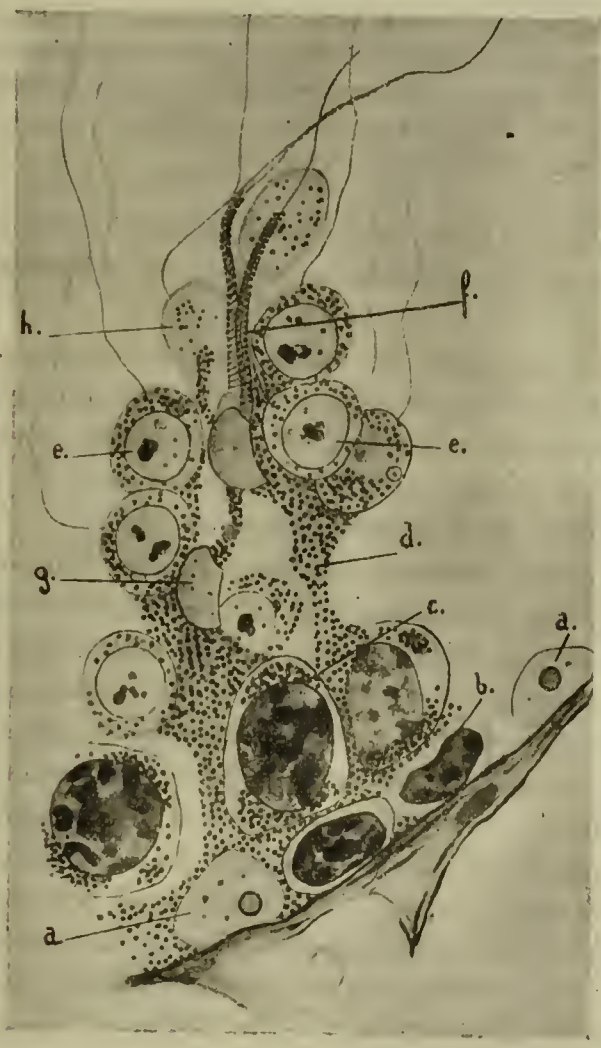

Fig. 87. — Mitocondrias de las espermátidas del ratón, teñidas por el método de Achúcarro; preparación y dibujo de García Banús. — *c*, células de pie; *d*, mitocondrias; *f*, mitocondrias de los zoospermos.

cífico de los elementos nobles, tales como las neurofibrillas, miofibrillas, etc.

En estos últimos años (1912-1914), Retzius, después de confirmar la existencia de granos ó microsomas intraprotoplásmicos, que identi-

ca con las mitocondrias, afirma que los descubrimientos de Benda y Meves poseen escasa novedad, toda vez que ya Flemming hace treinta años, habló de organitos parecidos. En sentir del histólogo sueco, los *condriomitos* ó *plastocontes* de Meves coinciden exactamente con el *mitom* de Flemming y los *condriosomas* ó *plastosomas,* no serían otra cosa que los *bioblastos* de Altmann ó *microsomas* de Flemming.

Que las críticas de Retzius están justificadas, lo persuade la reciente declaración de Meves (1912), quien, reconociendo la citada coincidencia, reivindica para sí el mérito de haber reunido y combinado, asentándolas sobre nuevas observaciones, la teoría del *mitom* de Flemming y la *granular* de Altmann.

Inclusiones.—Así se designan las materias inertes enclavadas en los huecos del protoplasma ó también en los intersticios del retículo.

Los autores distinguen las inclusiones en dos clases: materias de origen intracelular que representan verosímilmente el resultado de la actividad secretoria del protoplasma, y materias de origen exterior, ó sean cuerpos extraños englobados por el protoplasma á favor de su contracción amiboide.

Materias de origen intracelular.—A esta categoría corresponden las gotas de grasa de las células adiposas, hepáticas y cartilaginosas; los fermentos de las glándulas estomacales y pancreáticas; las partículas melánicas de los corpúsculos de la coroides, las esferas de eleidina ó keratohialina de los elementos superficiales del cuerpo de Malpigio de la piel; las gotas de mucina de las células epiteliales caliciformes del intestino; los granitos protéicos, neutrófilos y eosinófilos de los leucocitos; en fin, todos los encymas y substancias elaboradas por los plasmosomas ó granulaciones vivas del protoplasma. La inclusión representa, pues, el término final de la transformación de las granulaciones intraprotoplásmicas, según dejamos consignado más atrás.

En las células vegetales existen también numerosas inclusiones de origen plasmosomático, tales como los *granos de almidón,* de *aleurona,* de *grasa,* de *materias colorantes,* las *vesículas acuosas,* los *bastoncitos* y *agujas* de materias protéicas cristalizadas, etc.

Inclusiones de origen exterior.—Pertenecen á ellas los cuerpos extraños que tan á menudo penetran en el protoplasma de leucocitos y células embrionarias (fagocitos).

Las partes extrañas más frecuentemente englobadas son: partículas de carbón (células del pulmón), gotas de grasa (células de las vellosidades intestinales) y microbios (corpúsculos epiteliales de la boca, leucocitos, etc.).

La mayor parte de los cuerpos extraños residen en leucocitos de la sangre transmigrados, cuya misión parece ser apoderarse de toda partícula insoluble viva ó muerta que traspasa las barreras epiteliales y amenaza impurificar los humores y tejidos. Esta importante función, de que más adelante hablaremos, se llama *fagocitosis*.

CAPÍTULO VI

Vacuolas. — Aparato tubular de Golgi. — Conductos nutritivos. — Conductos secretorios. — Fenestramientos protoplásmicos. — Núcleos accesorios. — Diferenciaciones celulares en los protozoarios. — Teorías hipotéticas sobre la construcción del protoplasma.

Vacuolas. — El jugo celular constituye extensos depósitos en las células vegetales (fig. 89, *a)*. Además del líquido que infiltra el retículo propiamente dicho, éste se retrae en muchos parajes, limitando vastos espacios donde se alojan el enquilema y diversas inclusiones (gotas de grasa, clorofila, aleurona, granos de almidón, etc.). Estos espacios, llamados

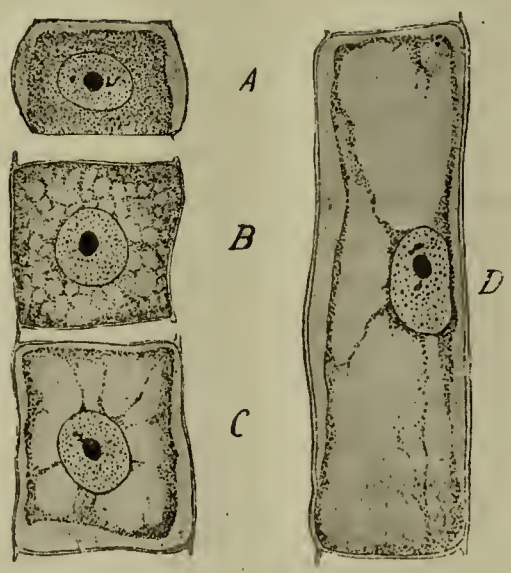

Fig. 88. — Evolución de las vacuolas en las células vegetales. — A, B, C, D, fases de crecimiento y vacuolización del protoplasma (Prenant).

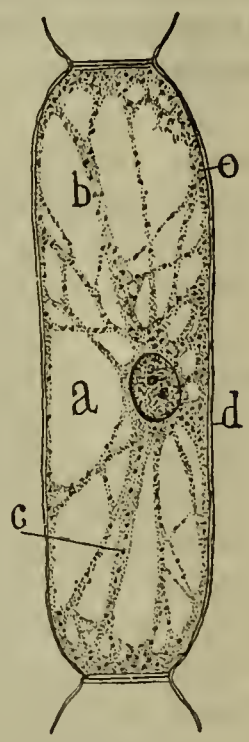

Fig. 89.— Célula de los pelos estaminales de la *Tradescantia virginica*. Examen en vivo.— *a*, gran vacuola llena de jugo celular; *b*, cordones protoplásmicos; *c*, granos de inclusión; *d*, membrana de cubierta.

vacuolas, crecen en amplitud conforme se desarrolla la célula, según puede verse en la figura 88, en la cual A, B, C, D, re-

presentan diversas fases de la vacuolización del protoplasma.

Las *vacuolas* de jugo celular son raras en el protoplasma de las células animales; no obstante, si se examinan leucocitos vivos ó células independientes como los amibos, no dejaremos de advertir algún acúmulo transparente de jugo celular, producido por la retracción excéntrica del retículo. Estas colecciones líquidas son esféricas, aparecen y desaparecen durante las contracciones amibóideas, y en ellas se disuelven substancias ácidas y fermentos.

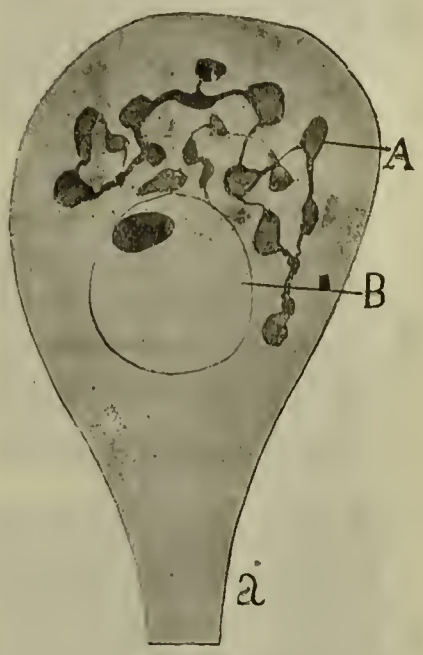

Fig. 90. — Célula nerviosa de la lombriz de tierra. — A, intestino protoplásmico; B, núcleo. (Método del nitrato de plata reducido).

Aparato reticular interno de Golgi.—Con ayuda del método del cromato de plata algo modificado, encontró dicho sabio hace pocos años en el endoplasma de células nerviosas ganglionares (ganglios raquídeos) un sistema de trabéculas anastomosadas, dispuestas en red perinuclear independiente. Las investigaciones posteriores de Holmgren (1901 á 1904), de Negri, Kopsch, Misch, Soukanof, Verson, las nuestras (1903-1912), las de Perroncito, Fañanás, Río (1913) y Tello (1914), prueban que este aparato no es privativo de los elementos nerviosos grandes, sino que se le encuentra también en numerosas células de tejido (elementos epitélicos intestinales, glandulares, cutáneos, células de Schwann, etc.), y acaso en todas las unidades vivientes de los animales. Nosotros lo hemos sorprendido en la mayoría de las células de los vermes, y Sánchez (1904) en no pocos elementos de los crustáceos.

La posición, figura y complicación de este singular aparato reticular varían mucho con la jerarquía del tejido y con la especie animal. En las células nerviosas de los vertebrados afecta,

según demostró Golgi, forma de red perinuclear completa y complicadísima; mientras que según resulta de recientes observaciones nuestras, en los ganglios de los invertebrados, semejante sistema no sólo cubre un sector limitado del núcleo (fig. 90); en fin, las células glandulares y epiteliales de vertebrados é invertebrados (Negri, Holmgren, Cajal), su disposición es muy sencilla, reduciéndose á unas cuantas circunvoluciones y residiendo en la región del protoplasma situado entre el núcleo y la superficie libre (figs. 92 y 93, *a)*. Además, las anastomosis son raras, advirtiéndose claramente los cabos del retículo acabados en fondo de saco.

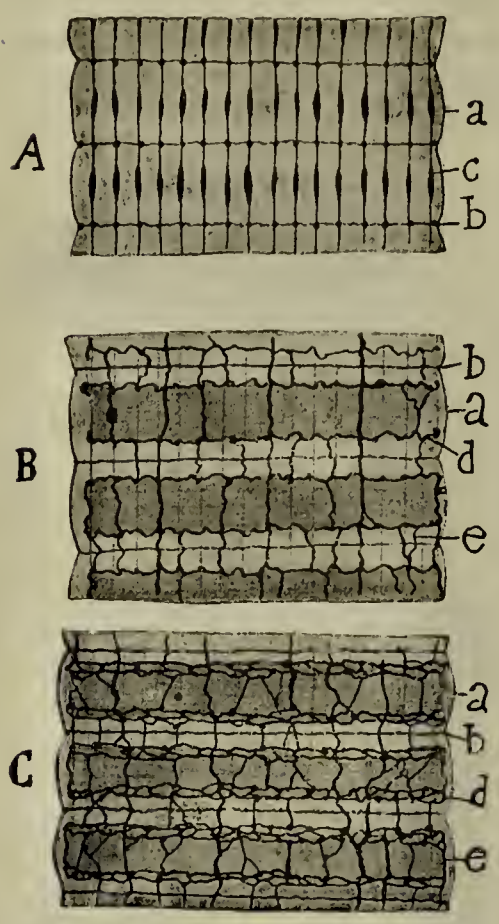

Fig. 91. — Trozos de fibra muscular de insecto. — A, fibra tratada por el cloruro de oro; B, fibra del *Geotrupes stercorarius* tratada por el método de Golgi; *d* y *e*, trabéculos del aparato tubular; C, músculo de otro insecto en el cual las redes del sistema de conductos se complican notablemente *(e, d)*.

En ningún tejido se presenta el aparato tubular tan complicado como en la célula muscular estriada. Según señalamos hace tiempo nosotros (1890) en las fibras musculares de los insectos y han confirmado, añadiendo detalles interesantes, en los mamíferos, Fusari (1884), Veratti (1902), Sánchez (1907) y Holmgren (1908), estos cordoncitos afectan gran delicadeza y se disponen en una serie de redes horizontales tupidas unidas por trabéculas longitudinales. Semejantes redes rodean las fibras musculares primitivas y se extienden por todo el espesor de la fibra muscu-

lar (fig. 91, *d, c)*. Más adelante, cuando tratemos de este tejido, daremos detalles de tan curiosa disposición.

Ignórase la significación del aparato reticular de Golgi, que algunos autores han estimado erróneamente como un sistema de conductos comunicantes con los capilares linfáticos, y en donde penetrarían expansiones de células extrañas (teoría del *trofoespongio* de Holmgren). Pero esta opinión resulta inadmisible desde que se sabe que tales cordones no comunican jamás con el exterior, ni se aproximan siquiera á la superficie celular.

Recientes investigaciones nuestras efectuadas con un método es-

Fig. 92. — Célula epitelial del intestino del *Lumbricus*. — *a*, intestino intraprotoplásmico; *b*, núcleo; *c*, chapa.

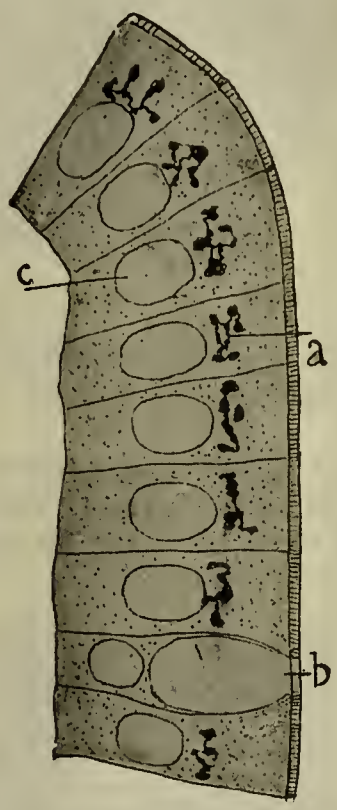

Fig. 93. — Epitelio del conejo de Indias recién nacido. — *a*, intestino protoplásmico.

pecial (1) y ampliadas por Tello, Fañanás (1913) y Río Hortega (1914) en nuestro Laboratorio, nos han conducido á pensar que el aparato de Golgi se compone de dos cosas: un sistema de huecos continuos, limitados ó no por fina cutícula ó capa cortical; y un contenido granuloso, cuya masa y distribución experimenta grandes mudanzas, según

(1) *Cajal:* Fórmula de fijación para la demostración del aparato de Golgi, etc. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

el estado fisiológico del protoplasma. Métodos hay, como la fórmula al *ácido ósmico* de Kopsch, la del *ácido arsenioso* de Golgi (1911) y la nuestra del *formol-urano* (1912), que tiñen exclusivamente el

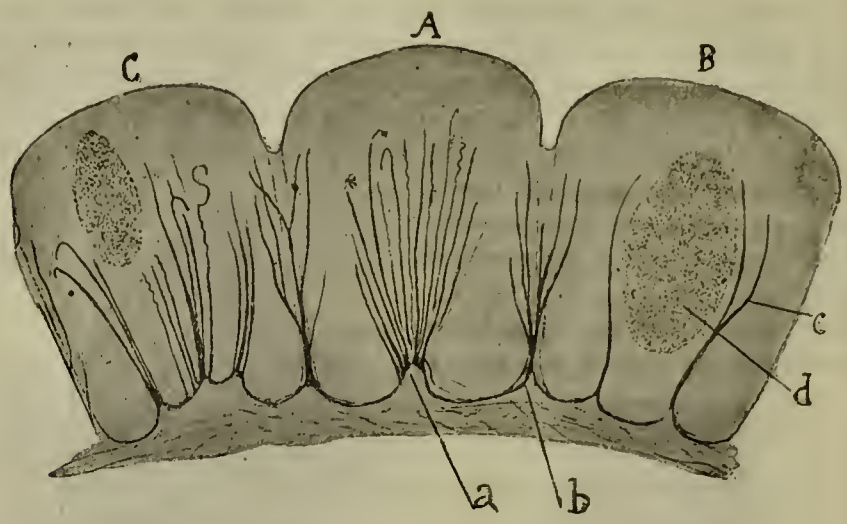

Fig. 94. — Células epiteliales del intestino del *Porcelio ornatus.—a, b,* embudos subepiteliales de que brotan los conductitos nutritivos. (Según Sánchez).

contenido granuloso, mostrando á menudo cordones sueltos y redes discontinuas, á causa, sin duda, de la desigual distribución de aquél, en el sistema de oquedades intraprotoplásmicas; mientras que el antiguo método de Golgi, así como el de Veratti (cromato de plata), impregnan exclusivamente el sistema de cavidades donde se aloja dicho material granugiento, dando por tanto un sistema reticular perfectamente continuo y poco varicoso. Sobre la significación fisiológica de dicha masa granular, nada preciso puede afirmarse. Cabe no más conjeturar que representa una reunión de organitos, dotados de cierta autonomía vital y en posesión de importantes atributos fisiológicos, según lo demuestra el hecho, descubierto por Perroncito (1911) y comprobado por Deineka (1912) y Fañanás (1913), de que durante la mitosis el citado apa-

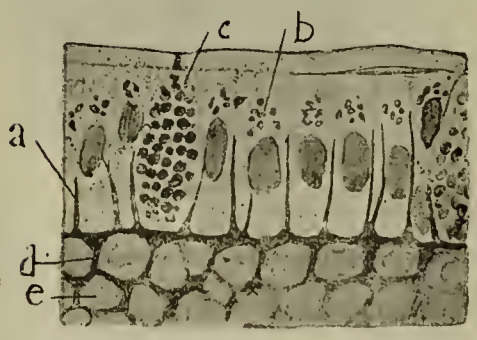

Fig. 95. — Corte del epitelio cutáneo del *Lumbricus.—a,* tubos interepiteliales ó de nutrición; *d,* espacios intermusculares de donde parten; *b,* intestino protoplásmico débilmente diseñado.

rato reticular se disgrega, produciéndose cordones y granos sueltos, los cuales, al modo de los cromosomas, expérimentan también fenómenos divisorios y curiosos actos de repartición equipotencial en las células hijas.

Según Fañanás, durante las primeras fases de la vida embrionaria (embrión de pollo del segundo y tercer día) el aparato de Golgi está representado por granitos y bastones sueltos esparcidos por el protoplasma, y enteramente semejantes á las mitocondrias halladas por Meves y Duesberg en los embriones (1913).

Conductitos nutritivos intraprotoplásmicos.—Nuestras investigaciones y las de Sánchez han revelado la existencia, en células epiteliales de los invertebrados, de un sistema de finísimos tubos, que desde los espacios linfáticos ó lagunas del tejido conectivo penetran en el espesor del protoplasma, donde acaban frecuentemente mediante fondos de saco, y menos á menudo por anastomosis con los conductos vecinos.

En la sanguijuela (intestino y piel) muchos de tales túbulos marchan primeramente por el cemento interepitelial, para ladearse después y abordar el protoplasma. En la piel del *Lumbricus,* según mostramos en la figura 94, *a,* tales tubos marchan y se terminan en punta en el cemento interepitelial, penetrando rara vez en el protoplasma.

La continuidad indudable de los referidos conductitos con los espacios conectivos, donde desaguan mediante ensanchamientos infundibuliformes (fig. 93, *a, b),* y á veces en verdaderos vasos nutritivos (piel de *Hirudo* y de *Lumbricus),* permite sospechar que representan un sistema linfático adventicio sin membrana, terminado en pleno protoplasma. Holmgren ha confirmado también dicho hallazgo en la sanguijuela, revelando además conductos comunicantes con el exterior en muchas células de invertebrados.

Tubos escretores ó de avenamiento (drainaje). — En ciertas células secretorias existen, según descubrimos Retzius, Müller y nosotros, un sistema de tubos intraprotoplásmicos ramificados que desaguan por un tallo en el interior de la luz glandular. Semejantes huecos, que no deben confundirse con los nutritivos antes descritos, puesto que no comunican jamás con los espacios conjuntivos, tienen por misión conducir el producto segregado desde todos los territorios del protoplasma celular al interior del tubo glandular. Su disposición puede, pues, compararse con las corrientes de avenamiento ó drainaje de los terrenos encharcados. En la figura 96, *a,* mostramos la disposición de tales huecos en los elementos semilunares de la glándula submaxilar.

Fenestramientos protoplásmicos.—Nuestras observaciones (1905), efectuadas con el método del nitrato de plata reducido, y confirmadas

por numerosos sabios (Levi, Marinesco, Dogiel, etc.), han puesto de manifiesto una curiosa disposición, que sólo se observa en los volu-

Fig. 96. — Diversos tipos de células fenestradas en los ganglios sensitivos del cordero (método del nitrato de plata reducido).—A, C, células en que la porción fenestrada es independiente del axon; B, D, E, otras en que el sistema fenestrado concurre en el axon; *a*, asas protoplásmicas; *d*, cordones gruesos; *e*, axon.

minosos corpúsculos sensitivos de los vertebrados. Consiste en el acribamiento de las regiones marginales del protoplasma, que se

dispone, ora en forma de gruesos cordones superpuestos en asas ó arcadas irregulares (fig. 96), ora en forma de red delicadísima de tres dimensiones. En las mallas de esta red alójanse ciertas células llamadas satélites y que pudieran compararse con las neuróglicas halladas por diversos autores en las neuronas gigantes de los cefalopodos. Levi (1908), que ha estudiado tales fenestramientos en los ganglios sensitivos de los peces, supone que semejante disposición, propia de corpúsculos colosales, obedece á fines nutritivos, es decir, á la facilitación de los cambios químicos entre el protoplasma y el ambiente.

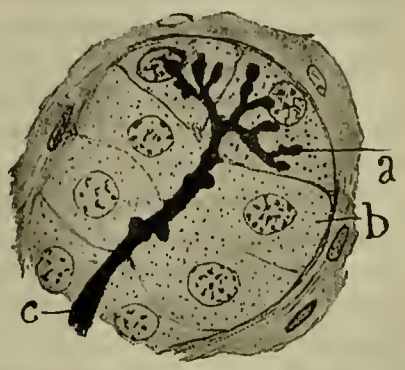

Fig. 97. — Vesicula terminal de la glándula submaxilar. — *a*, terminaciones intracelulares de un conducto secretor.

Diferencias celulares en los protozoarios. — Cuando se compara un protozoario (amibo, infusorio, etc.), formado, según se sabe, de una sola célula, con los elementos asociados de los animales superiores, llaman la atención algunas diferencias estructurales imputables al género de vida y modo alimenticio de entrambas categorías celulares. En general, el protozoario aparece más complicado que la célula de tejido, porque tiene que ejercitar él solo todas las actividades fisiológicas repartidas en los diversos órganos de los metazoarios. Así, en los amibos é infusorios se encuentran apéndices contráctiles destinados á la reptación y natación, vacuolas alimenticias á manera de estómagos, en donde, bañadas por una secreción ácida, sufren transformación las presas engullidas; una vesícula pulsátil, especie de corazón sometido á contracciones (diástole y sístole), mediante las cuales circula el enquilema á lo largo de un sistema de conductores intraprotoplásmicos (fig. 75, *d*). En fin, en ciertas especies existen boca, esófago y ano (simples cavidades intraprotoplásmicas) y hasta dos manchas pigmentarias rojas colocadas cerca del látigo, semejantes á ojos rudimentarios (ciertos infusorios flagelados y zoosporos de algas), amén de algún órgano defensivo.

Si semejantes diferenciaciones faltan ó están en vías de atrofia en las células de tejido del hombre y vertebrados, ello depende del carácter simbiótico de estos elementos. En efecto, los organismos superiores son comparables á una asociación simbiótica de unidades fisiológicas profesionalmente diferentes, las cuales, por efecto de la vida en común (división del trabajo y alimentación comunal mediante un líquido nutritivo preparado por una categoría especial de corpús-

culos), atrofiaron los órganos de prehensión, digestión y alimentación indispensables á la vida nómada y autónoma. De donde resulta que la simplificación celular, cuando se asocia á la división del trabajo, representa para el conjunto orgánico un progreso y un perfeccionamiento, al modo como en un Estado industrial la prosperidad social resulta de la simplificación maquinal del obrero, en quien la dura ley de la división del trabajo produce la atrofia de muchos órganos, singularmente de los más nobles, en beneficio de la hipertrofia de unos pocos, los ejecutantes de la función especial.

Concepciones teóricas sobre la construcción del protoplasma.—*Teoría del retículo.* —Frohmman, Heitzmann, Klein, Leydig, Carnoy, etc., consideran formado el protoplasma por una rejilla de finos hilos sumergida en un líquido transparente. Los microsomas ó granitos incluidos en el cuerpo celular representarían los nudos de la red.

Teoría filar. —Según Flemming, el protoplasma se compone de hilos *(mitom)* y de substancia interfilar *(paramitom)*. Estos hilos, ya cortos, ya largos, ya escasos, ya abundantes, se hallarían, no anastomosados, sino entrecruzados. Dentro del mitom residirían ciertos gránulos ó *microsomas*. Esta teoría, basada en hechos precisos de observación, ha sido modernamente (1913) defendida por G. Retzius, que la ha perfeccionado é ilustrado por nuevas investigaciones en el óvulo, células nerviosas y otros elementos.

Según Retzius, todo protoplasma contendría tres factores esenciales: el *hialoplasma* (*paramiton* ó masa interfilar); un *armazón de filamentos ramificados,* flexuosos, pero no anastomosados (*mitom* de Flemming), correspondientes á los *plastocontes* de Meves; y ciertos *granos* dispuestos en serie y alojados en el espesor del *mitom* (*microsomas* de Flemming, correspondientes á los *grámulos* de Altmann ó *plastosomas* de Meves). Además de este esqueleto, las células altamente diferenciadas como las musculares nerviosas, etc., tendrían otros sistemas de fibrillas (*miofibrillas, neurofibrillas*, etc.).

Teoría alveolar.—Bütschli ha imaginado, para explicar el aspecto filamentoso y reticulado del protoplasma, una estructura esponjosa, comparable á la de la espuma del jabón. Los alvéolos tendrían forma poliédrica y estarían formados de láminas de extraordinaria delicadeza. En su interior se albergarían gotas de líquido con materias orgánicas en disolución. Fúndase esta opinión en un experimento curioso: si se mezcla una solución de sal ó de azúcar con aceite de olivas, fórmase una espuma que, examinada al microscopio, presenta tabiques alveolares de aceite y cavidades ó espacios cerrados llenos de la solución salina ó azucarada. La estabilidad y relativa consistencia celular, como la de las espumas, procede de que el protoplasma y núcleo se compone de emulsiones de diversas substancias.

Teoría gramular. — Altmann ha resucitado, bajo otra forma, la

teoría de los *microcimas* de Béchamp sobre la construcción de la célula.

Estos granos, de forma esférica, que dicho autor denomina *bioblastos*, representarían elementos dotados de vida individual, á cuyo cargo correrían todas las manifestaciones fisiológicas de las células. Estas no serían otra cosa que colonias ó zoogleas de bioblastos reunidos en masa, gracias á la presencia de una materia gelatiniforme intersticial (substancia intergranular). El bioblasto se engendraría por partición, como las células. *Omne granulum ex granulo* es la fórmula de Altmann. Destruídas las células, sucumbirían los bioblastos. Los microbios, singularmente los micrococos, serían bioblastos independientes.

Como se ve, Altmann comete el error de considerar, sin prueba alguna, como unidades vivientes, diversas partículas intraprotoplásmicas de categoría diversa, entre ellas muchas inclusiones protéicas alojadas en las mallas del retículo. Además, como hace notar O. Hertwig, los microbios no son comparables á gránulos celulares, sino que tienen la representación de células, porque las recientes indagaciones de Bütschl, Ernst y Nils Sjöbring, han demostrado la existencia de verdaderos núcleos en bacterias de gran tamaño.

Pero á pesar del escepticismo de Fischer, que consideró artificiales los bioblastos y otros organitos intraprotoplásmicos, no se puede negar la preexistencia de las granulaciones de Altmann, que han sido confirmadas por diversos autores, señaladamente por Arnold, Held, Heidenhain. Verosimilmente, como hace notar Retzius y confirma Meves, los bioblastos de Altmann y las mitocondrias de Benda son la misma cosa.

Teoría micelar.—Nægeli ha imaginado, para explicar las propiedades físico-químicas de los cuerpos organizados, y particularmente de las células, una teoría química llamada teoría de las *micelas*.

Son las micelas ciertas moléculas orgánicas, invisibles al microscopio, y construídas de muchas moléculas químicas pertenecientes á cuerpos protéicos diversos. El agua entra constantemente en la constitución de la micela, formando en torno de ésta una atmósfera de espesor variable. Cuando los albuminoides se desecan, esta atmósfera se pierde, poniéndose las micelas casi en contacto; una nueva hidratación restablece las capas acuosas perimicelares y las micelas se separan dando lugar al fenómeno de la hinchazón y disolución del material albuminoide. Entre las micelas habría un líquido nutritivo.

En el núcleo y protoplasma activos, las micelas hállanse reunidas en cadenas de varias formas, que pueden juntarse entre sí, constituyendo reticulaciones complicadas. Estas redes pasarían de una célula á otra, engendrando un vasto sistema de cordones micelares comunicantes. Las micelas se multiplicarían por excisión.

La teoría micelar, más ó menos transformada, ha sido acogida por Weissmann y O. Hertwig para explicar la transmisión de las cualidades hereditarias en el fenómeno de la fecundación (*idioblastos* de Hertwig, *bióforos, determinantes, ides é idantes,* de Weissmann).

Teoría de Wiener.—Partiendo de la relatividad de nuestros conocimientos histológicos, cuya frontera siempre creciente está trazada por el poder amplificante y resolutivo del microscopio, Wiener supone la existencia en los seres vivos de una serie de individualidades, de volumen decreciente, caracterizadas por ser asiento de fenómenos nutritivos y poseer capacidad de reproducción. Así, en los animales, gozan de individualidad y capacidad reproductiva: 1.°, el animal; 2.°, el órgano; 3.°, el tejido; 4.°, la célula, y 5.°, las protomeras ó granulaciones vivas de la célula, etc. Y como no es racional suponer que esta serie de individualidades vivientes cese allí donde la limitación del microscopio cierra el paso á la observación, es fuerza admitir elementos más pequeños todavía que las granulaciones visibles y vivientes del protoplasma, hasta llegar á los más diminutos, capaces todavía de aptitud divisoria. Estas unidades últimas, metamicroscópicas ó invisibles, representarían las verdaderas unidades fisiológicas del organismo, las *plasmonas*, de que se compondrían las más pequeñas partículas apreciables al microscopio.

Esta teoría, que ha sido acogida favorablemente por M. Heidenhain (1908), es hoy, bajo forma diversa, admitida por muchos histólogos. Nosotros mismos la hemos defendido para la constitución anatómica del retículo de la célula nerviosa (1907), al objeto de explicar el mecanismo del crecimiento y reproducción de este retículo durante el proceso de la regeneración de los nervios (hipótesis de las *neurobionas).* Recientemente (1912) hemos dado algunas pruebas de que las neurobionas del cilindro-eje son capaces de vivir cierto tiempo y hasta de vegetar sin el concurso del cuerpo celular (1).

Una diferencia esencial separa, sin embargo, dicha hipótesis de la de Altmann y otros, á saber: que las *plasmonas* ó unidades metamicroscópicas representan, no seres independientes, sino órganos célulares vivos subordinados al protoplasma é incapaces de vivir fuera del jugo celular ó del nuclear.

La hipótesis de Wiener no pugna, antes armoniza, con la teoría celular de Wirchow, la cual conserva su alta dignidad filosófica. Con aquélla, el elemento anatómico ó célula, mantiene su carácter de individualidad perfecta, ya que representa todavía, por lo menos en el estado actual de nuestros conocimientos, la última categoría de seres susceptibles de vida total y autónoma.

(1) *Cajal:* Discurso inaugural de las sesiones de la *Asociación para el progreso de las Ciencias.* Congreso de Madrid, 1912.

CAPÍTULO VII

NÚCLEO

Volumen, forma, estructura.—Armazón cromático, jugo nuclear, nucleolo y membrana nuclear.—Paranucleolos.—Cristaloides intranucleares.

El *núcleo* es un corpúsculo vesiculoso yacente en el espesor del protoplasma, y constituído principalmente por una materia que atrae vivamente el carmín y las anilinas básicas (nucleína ó cromatina).

El núcleo es un factor importantísimo de la vida celular; rige probablemente el acto de la multiplicación, y en su trama se encarnan, de preferencia, las condiciones materiales del proceso de la herencia histológica, es decir, de ese poder que las células tienen de reproducir exactamente la forma, volumen y fisiologismo de sus elementos progenitores. Cuando la célula pierde su núcleo, ora por virtud de lesiones físicas, ya por consecuencia de metamorfosis químicas, cesa en ella toda actividad, pudiéndose considerar como un cadáver. Tal sucede con los hematíes y con los elementos córneos de la piel, cuyos núcleos desaparecieron al compás de las transformaciones químicas ocurridas en el protoplasma. Lo mismo ocurre con los nervios cuando se separan violentamente de la célula nerviosa con que se continúan y donde reside el núcleo.

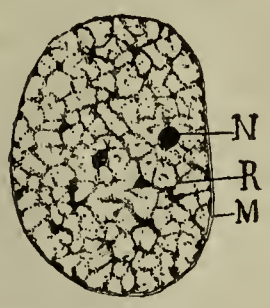

Fig. 98.—Núcleo de las células epiteliales de la larva de salamandra maculosa. Examen con el objetivo 1,30 de Zeiss.

Número. — Regla general es que cada célula albergue solamente un núcleo. Pero existen excepciones, entre las cuales citaremos los *osteoclastos* de la médula ósea, provistos de dos hasta seis á ocho núcleos, y, sobre todo, los corpúsculos musculares estriados, donde se cuentan por centenas.

En las plantas y animales microscópicos no es raro hallar muchos núcleos. Citemos, entre otros, el infusorio *Opalina ranarum,* parásito del intestino de la rana, y el alga *Vaucheria caulerpa,* dotada de miles de los referidos órganos.

Volumen del núcleo.—Oscila entre 5 y 12 micras. La dimensión del núcleo no guarda estricta relación con la talla de las células; puede, no obstante, afirmarse que los núcleos más voluminosos corresponden á los elementos gigantes (óvulo, células nerviosas, etc.). Asimismo, los animales que poseen gruesas células (larvas de urodelo y de insecto) exhiben también los núcleos más robustos. Notemos que este órgano varía poco en dimensiones en las diversas fases evolutivas de la célula, en tanto que el protoplasma suele crecer con la edad; por donde se ve que, cuanto más joven es el elemento, más voluminoso, con relación al protoplasma, aparece el núcleo.

Forma. — Por lo común, en toda célula embrionaria ó que se halla poco diferenciada, afecta la forma esférica ú ovóidea. Pero en algunos corpúsculos de tejido esta figura se modifica, haciéndose ya alargada, ya discóidea, ya lobulada. Por ejemplo, en las fibras musculares lisas, el núcleo se presenta en forma de bastoncito de cabos redondeados; en las mieloplaxias y ciertos leucocitos afecta figura irregular, exhibiendo lobulaciones y estrangulaciones separatorias; en los corpúsculos de las uñas y en los cartilaginosos superficiales, dicho órgano adopta figura más ó menos lenticular, etc.

Si de los vertebrados descendemos á los invertebrados, hallamos formas nucleares sumamente originales. Mencionemos el núcleo arborescente y complicadísimo del epitelio de las glándulas hileras de los lepidópteros, y el dispuesto en larguísimo rosario (porciones abultadas alternantes con partes estranguladas), propio de un infusorio, el *Stentor polymorphus.* No es raro hallar también núcleos deformados por la presión del centrosoma y esfera atractiva, deformación que puede llegar hasta un hendimiento casi total (*espermatidas* del cavia, según Bouin, epitelio faríngeo de la *Salpa punctata,* etc.).

Posición.—En las células desprovistas de inclusiones el núcleo suele ser central; mas desde el momento en que el protoplasma aparece henchido de inclusiones endógenas ó exógenas, dicho

órgano se torna excéntrico hasta hacerse periférico. Tal acontece, por ejemplo, en las células grasientas, musculares estriadas y, sobre todo, en los voluminosos óvulos de ave y reptil, cuyo protoplasma gigantesco encierra enorme cantidad de reservas alimenticias. Semejante movilidad del núcleo parece indicar que sus enlaces con el retículo protoplasmático son muy débiles ó no existen. Por lo demás, dicha dislocación, de ordinario pasiva, puede ser activa en algunas células vegetales, donde el núcleo se dirige siempre al paraje donde la nutrición y crecimiento son más intensos (Haberlandl y Korschelt).

Estructura del núcleo. — Consta este órgano de cuatro partes principales: la *cromatina* ó *armazón cromático,* el *jugo nuclear,* el *nucleolo* y la *membrana.*

Armazón cromático. — Constituye la parte más característica del núcleo y la que mejor se ha estudiado, gracias á las propiedades químicas especiales de que goza. Este armazón se compone principalmente de la *nucleína* de Miescher *(cromatina* de Flemming), material que posee la virtud de colorarse intensamente por el carmín, hematoxilina y los colores básicos de anilina. Los ácidos débiles, tales como el ácido acético y fórmico, que alteran y transparentan notablemente el protoplasma, endurecen y dan gran resalte á la cromatina. Estas dos propiedades (contraste mediante la acción del ácido acético y colorabilidad en carmín y hematoxilina madura), sirven para poner en evidencia el núcleo, aun en aquellos elementos donde éste alcanza estatura escasísima, y yace rodeado de un protoplasma abundante y rico en inclusiones. En los elementos vivos, el núcleo aparece tan pálido que sólo en algunos casos puede demostrarse con claridad. Como veremos más adelante, la *nucleína* de Miescher no es un principio inmediato bien definido, sino un complexus de cuerpos *(nucleo-proteídos).*

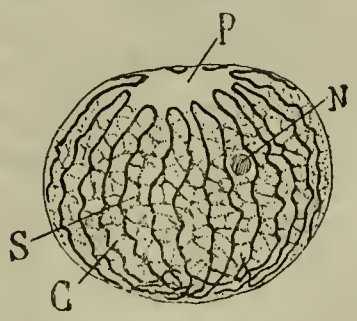

Fig. 99. — Esquema del núcleo según Rabl. — C, filamentos de cromatina ó primarios; S, filamentos de linina ó secundarios; N, nucleolo.

El armazón de cromatina puede afectar tres disposiciones: forma reticulada, en bloques ó esferas centrales, y en filamento libre y continuo.

Cromatina reticulada.—Esta es la disposición más general y típica; obsérvase en las células epiteliales, conjuntivas, cartilaginosas, glandulares, etc., de los vertebrados, y aparece tanto más claramente, cuanto más embrionarios son los elementos observados.

El mejor objeto de estudio de la reticulación cromática fórmanlo las células de las larvas de urodelo, previa fijación con bicloruro de mercurio y coloración con hematoxilina. La cromatina se presenta teñida en violeta intenso, y sus trabéculas de vario espesor y dirección convergen al nivel de ciertas nudosidades, una de las cuales, más robusta que las otras, desígnase con el nombre impropio de nucleolo (fig. 98). Hacia la periferia, los filamentos cromáticos parecen fijarse en la membrana, á beneficio de una nudosidad más ó menos voluminosa.

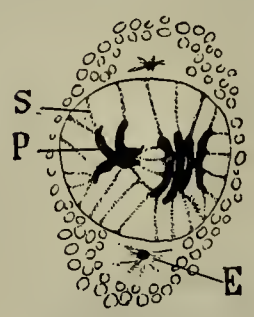

Fig. 100.—Célula madre seminal del *Ascaris megalocefala* (Hertwig). — P, filamentos cromáticos del núcleo; S, filamentos acromáticos; E, centrosoma.

Dicho retículo no consta exclusivamente de cromatina; los buenos objetivos de inmersión revelan dos materias: la *cromatina* propiamente dicha, que forma los nudos de la red y acaso algún filamento grueso; y la *linina,* que constituye los trabéculos finos, es decir, aquellas partes del retículo refractarias á la coloración por la hematoxilina y anilinas (fig. 100, S).

Estas dos materias, colorable la una é incolorable la otra por los reactivos del núcleo, se perciben ya, con ayuda de buenos objetivos de inmersión, en las células de los mamíferos; pero aparecen mucho más claramente en las de los urodelos (Flemming), y sobre todo en ciertos elementos seminales embrionarios del *Ascaris megalocefala* (O. Hertwig), donde como se ve en la figura 100, S, la *linina* se modela en delicados filamentos periféricos, y la *cromatina* en gruesos trabéculos centrales. En

ciertos casos (Pfitzner, Strassburger, etc.), el retículo nuclear consta de granos sueltos de cromatina, separados por un cemento intercalar de linina.

Cromatina glomerular ó filamento continuo.—La cromatina reviste en los núcleos de insecto (larvas de muscido, de nemocero, etc.), la forma de filamento libre, continuo, apelotonado, cuyas vueltas y revueltas le prestan aspecto de intestino. Como ya demostró hace tiempo Balbiani en las larvas del *Chironomus,* Carnoy en las de *memocero,* y nosotros en el estómago chupador de las de *muscido,* dicho filamento se compone de dos clases de discos alternados: *obscuros* formados de cromatina y *pálidos* construídos de linina (fig. 101, *a).*

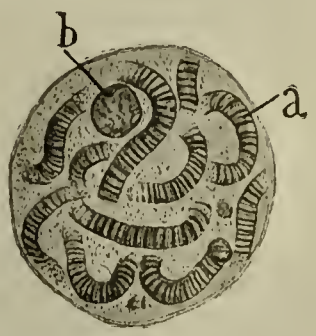

Fig. 101.—Núcleo del estómago chupador de una larva de muscido. — *a,* filamento nuclear estriado; *b,* nucleolo verdadero.

Según van Gehuchten, las vueltas del filamento continuo no se dispondrían al azar, sino con cierto orden, dejando libres dos zonas polares, cuya línea de unión llama este autor *eje orgánico* del núcleo.

Cromatina conglomerada.—En lugar de armazón reticulado, ciertos núcleos exhiben una masa central más ó menos redondeada de cromatina, al parecer desprovista de estructura. Como ejemplos de semejante disposición deben citarse: los núcleos de las células más superficiales del cuerpo de Malpigio de la piel, en los que la cromatina aparece condensada en una esfera central alejada de la membrana nuclear; los zoospermos, cuya cabeza representa un núcleo macizo, construído de cromatina homogénea; el óvulo maduro, dentro de cuyo núcleo se advierten uno ó más acúmulos redondeados de dicha substancia, flotantes en un jugo nuclear abundante *(manchas germinativas),* y, en fin, las células nerviosas de talla considerable, en donde la cromatina se dispone, según probó Levi, en casquetes semilunares, ó fragmentos de esfera, en torno del nucleolo.

La cromatina homogénea representa para Hertwig una fase transitoria, la cual, por absorción de agua y de vacuolización

subsiguiente, pasaría en ciertos casos á la disposición reticulada.

Se habrá creído que el nucleolo de las células nerviosas constituía un ejemplo de cromatina ó nucleína concentrada en bloque. Recientes investigaciones parecen probar que, dicha masa esferoidal, representa un verdadero nucleolo de talla gigantesca. Según veremos más adelante, este nucleolo, lejos de ser homogéneo, consta de la reunión de esférulas diminutas (fig. 102, *b*).

El jugo nuclear de las células nerviosas contiene, además, otros corpúsculos esféricos diseminados (cuerpos paracromáticos ó nucleolos accesorios) dotados de propiedades químicas especiales. En la figura 102 presentamos el aspecto del nucleolo y de los cuerpos esféricos accesorios (*c*) de algunos elementos nerviosos.

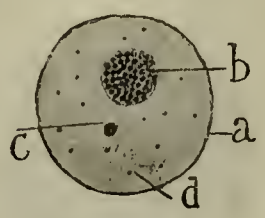

Fig. 102.—Núcleo de una célula nerviosa motriz de la médula espinal.—*b*, nucleolo voluminoso formado por esférulas; *c*, esferas cromáticas accesorias; *d*, corpúsculos especiales no cromáticos; *a*, membrana nuclear.

Jugo nuclear. — Es el líquido transparente, poco ó nada colorable por los reactivos de la cromatina, que llena las mallas del armazón cromático y todo el espacio limitado por la membrana nuclear. Este líquido tiene en disolución diferentes materias protéicas, las cuales, después de la muerte ó por la acción de los coagulantes, pueden precipitarse, engendrando á menudo una reticulación pálida y granugienta.

Los trabajos modernos añaden algunos detalles, todavía no generalmente confirmados, á la estructura clásica del núcleo.

Así, Heidenhain describe en los núcleos fijados en sublimado y coloreados por las anilinas, dos especies de cromatina: la *basicromatina,* correspondiente á los gránulos de cromatina ordinaria de los autores, caracterizada por su afinidad por las anilinas básicas, y la *oxicromatina ó lantanina,* dispuesta en finos gránulos incorporados al retículo de cromatina básica y caracterizada por su colorabilidad por las tinturas ácidas. Según Levi, Buhler, etc., la basicromatina se convertiría en oxicromatina en los núcleos avegentados. Mediante el líquido de Biondi (mezcla de colores básicos), la basicromatina se tiñe en verde y la oxicromatina en rojo.

Por su parte, Reinke, después de confirmar las dos especies de cromatina de que habla Heidenhain, añade todavía la existencia de

ciertos gránulos pálidos, incolorables por los reactivos y susceptibles de hincharse por el agua. Esta substancia granular, que denomina *edematina,* reside en los huecos ó mallas del retículo cromático, formando una parte del jugo nuclear de los autores. En el verdadero jugo nuclear, es decir, en la substancia líquida situada entre los granos de edematina, hallaríanse unos finos hilos (quizá los hilos de plastina de Carnoy), los cuales atravesarían ciertos poros de la membrana nuclear y se continuarían con los filamentos del protoplasma. Una parte de los datos expuestos por Reinke ha sido confirmada por Schloter, quien da un esquema muy complicado de la célula, describiendo, tanto en el protoplasma como en el núcleo, muchas variedades de gránulos. Algunos autores, tales como Heidenhain (1908), dudan de la preexistencia de los hilos de linina que reputa formados de conglomerados de oxicromatina.

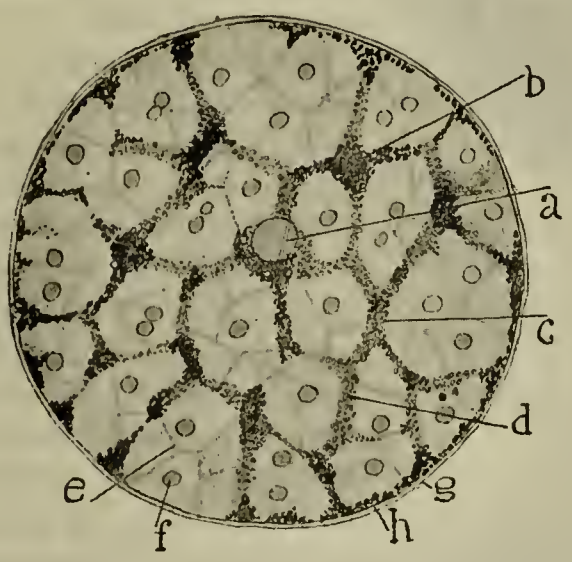

Fig. 103.—Esquema de la composición morfológica del núcleo. — *a,* nucleolo verdadero; *b,* nucleolo falso ó cromático; *c,* basicromatina; *d,* oxicromatina; *e,* filamentos de linina; *f,* esferas de edematina; *g,* membrana; *h,* corteza cromática.

En la figura 103 aparecen reproducidos, esquemáticamente, los más importantes detalles de la textura del núcleo, según Heidenhain, Reinke y Schloter. Se han omitido en la figura los tenues filamentos perforantes de Reinke, por parecernos algo problemáticos.

Nucleolo. — Es un pequeño corpúsculo, generalmente redondeado, yacente dentro del núcleo como el núcleo dentro de la célula. Hay que distinguir dos especies de nucleolos: los aparentes y los reales.

Nucleolos aparentes. — Cuando no se conocía bien la estructura del núcleo, calificábase de nucleolo todo grano de algún tamaño y resalte que surgía en medio de la masa nuclear. Hoy se sabe que la mayor parte de los nucleolos que los autores antiguos señalaban en las células, no eran otra cosa que los nudos más espesos del retículo cromático, entre los cuales suele existir uno donde la cromatina aparece especialmente acumulada. Como nucleolos aparentes pasan también las manchas germinativas del óvulo (de las que ya hemos dicho constan esencialmente de cromatina) y los acúmulos cromáticos nucleares de muchos organismos vegetales y animales inferiores.

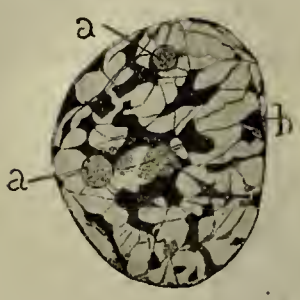

Fig. 104.—Núcleo de la capa germinal del epitelio intestinal de la salamandra. Sublimado. Coloración por la hematoxilina ferruginosa. — *a*, nucleolos insertos en la red de cromatina; *b*, grumos cromáticos. (Según M. Heidenhain).

Nucleolos verdaderos.— Así se llaman unos corpúsculos comunmente esféricos y esencialmente constituídos por una materia especial, llamada por nosotros *nucleolina* (1883) y que hoy, desde las investigaciones minuciosas de Zacharías y Schwartz se denomina *pirenina* ó *paranucleína* (fig. 104, *a*).

La *pirenina* ó materia del nucleolo goza de gran refringencia, resaltando hasta en el mismo bálsamo del Canadá; resiste, al revés de la nucleína, la acción de los álcalis diluídos; y el ácido acético le presta gran transparencia, aunque no llega á disolverla. El ácido ósmico, que hace palidecer la cromatina, exagera la refringencia de la pirenina. El método del nitrato de plata reducido colorea en café los nucleolos.

El nucleolo verdadero existe en todas ó la mayor parte de las células. Ignórase si posee estructura especial; lo único que puede asegurarse es que está rodeado de fina membrana y que, á menudo, encierra algunas vacuolas. En los nucleolos de las larvas de insecto hemos creído notar una textura filamentosa.

Sin embargo, la textura filamentosa señalada por nosotros (grandes células glandulares de las larvas de muscido), así como la disposición reticulada descrita por Carnoy (óvulo de triton),

pudieran interpretarse como simple efecto óptico de numerosas y apretadas vacuolas, provocadas artificialmente por los reactivos. Por artificial diputamos también el *nucleolino* de ciertos autores, que nos parece representar, por lo menos en muchos casos, una vacuola pequeña y central producida en ciertos gruesos nucleolos (óvulo, células nerviosas, etc.), por los reactivos fijadores. En cambio, hay nucleolos grandes (células nerviosas) donde se observan claramente esférulas inferiores y una materia intersticial (fig. 102, *b*).

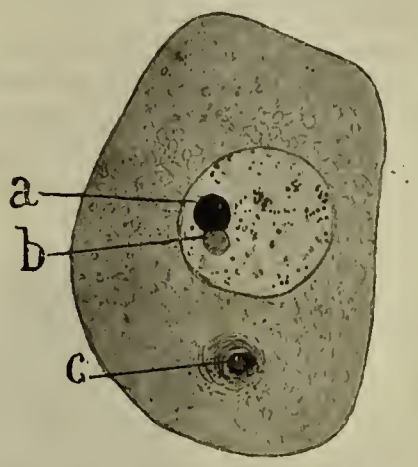

Fig. 105. — Óvulo de la *Tegenaria domestica*. — *a*, nucleolo ordinario; *b*, nucleolo accesorio; *c*, núcleo vitelino.

Paranucleolos.—Existen nucleolos verdaderos de composición más complicada. Flemming y O. Hertwig han notado que los nucleolos ó manchas germinativas de ciertos óvulos (*Asteria glacialis, Cyclas cornea,* etc.), están formados por la reunión de dos corpúsculos de tamaño desigual y de propiedades químicas diferentes (fig. 105).

El mismo fenómeno se da en el óvulo de moluscos, anélidos y arácnidos (Mongomery, Orbst, etc.), en donde á menudo se descubren dos nucleolos; uno *principal* simple ó doble, relativamente pequeño, y otro *accesorio,* designado comunmente el *paranucleolo,* y que sólo aparece cuando el óvulo se acerca á la fase de madurez. El *paranucleolo* yace unas veces en contacto con el nucleolo principal, mas á veces se aleja de él (fig. 105, *b*).

La diversa composición química de ambos nucleolos se prueba por su diverso comportamiento en presencia de las materias tintóreas. En general, el nucleolo accesorio toma menos enérgicamente los reactivos que impregnan el nucleolo principal. Si, á ejemplo de Orbst, que ha estudiado el doble nucleolo del óvulo de los moluscos (Limax, Helix, Unio) y de los arácnidos (Epeira, Tegenaria, etc.), se tiñe primeramente por el carmín borácico y después con el *solidgrün* ó verde de metilo (extrayendo el color con el alcohol) el nucleolo principal ó legítimo, el que corresponde al órgano nuclear de la mayoría de las células, adquiere matiz azul, mientras que el *paranucleolo* toma color rojo.

Discútese todavía la significación morfológica y fisiológica del nu-

cleolo. Para muchos representa un órgano vivo estructurado, puesto que alguna vez ofrece movimientos amiboides y de traslación (Eimer, V. Hertwig, van Beneden, Balbiani, Schwalbe, Auerbach, etc.) y es susceptible de dividirse, al modo del centrosoma, durante el proceso de la segmentación directa. Otros autores, entre los que se cuenta M. Heidenhain, opinan, por el contrario, que dicho órgano constituye una inclusión alimenticia de carácter temporal y privada de organización. Fúndase este parecer, sobre todo, en la no participación de dicho organito en el fenómeno de la mitosis, durante el cual se le ve casi siempre disolverse en el jugo nuclear, para reaparecer más adelante, acabada la división celular, por una especie de secreción.

Fig. 106.—Trozo de un corte del cerebelo del conejo. Coloración por el proceder del nitrato de plata reducido.— *a*, bastoncito cristaloide del núcleo de una célula estrellada gruesa; *b*, fino bastoncito de los granos; *c*, nucleolo formado por esferas finas.

Bastoncitos cristaloides intranucleares.—En general, el núcleo no parece contener inclusiones. Hay, sin embargo, células cuyo núcleo encierra un bastoncito flexible, coloreable por ciertos procederes á las anilinas, y sobre todo por el método del nitrato de plata reducido (1.ª fórmula con nitrato de plata al 0'50 por 100). Este bastoncito, reputado por materia cristaloide, especie de reserva alimenticia nuclear, es absolutamente constante en los granos del cerebelo, donde es finísimo, según puede observarse en la figura 106, *b*, y en casi todas las neuronas de pequeño ó mediano calibre del cerebro. Indicado por Roncoroni hace algunos años, reconocido después esporádicamente por Lenhossék y Holgrem en algunas células, ha sido particularmente estudiado por nosotros (1903) y por Nageotte (1908) en el cerebro y cerebelo, con ayuda del citado proceder argéntico, que lo colorea constantemente.

Membrana nuclear. — El núcleo se limita por una membrana finísima, homogénea, resistente á los ácidos y álcalis é incolorable por los agentes tintóreos de la cromatina.

En la constitución de la membrana nuclear entra, de manera principal, una substancia de propiedades especiales: la *anfipirenina* de Zacharías.

Por lo demás, la membrana del núcleo es difícilmente revelable en algunas células, por ejemplo, en los hematíes nucleados de los anfibios; en cambio, resalta con perfecta claridad en el óvulo y células nerviosas gigantes.

Además de esta cubierta fina é incolorable (membrana acromática), algunos autores admiten otra situada por dentro de la anterior, construída de cromatina *(membrana cromática)* en continuación con el armazón nuclear.

Muchos autores dudan de la realidad de semejante capa cromática, y suponen que ésta es mera apariencia motivada por el hecho de que algunas trabéculas del armazón cromático se extienden paralela é inmediatamente por debajo de la membrana acromática, pareciendo, en el enfoque ecuatorial, como que se funden en masa continua. Para Flemming todavía existiría otra cubierta fina, situada por fuera de la nuclear hialina y mediante la cual el protoplasma se separaría del núcleo.

La membrana nuclear ¿tiene relaciones de continuidad con ambos retículos, nuclear y protoplásmico? Diversos autores han supuesto que la citada cubierta sirve de punto de inserción, por fuera, á los hilos del protoplasma, por dentro, á los trabéculos cromáticos y plastínicos. Ni faltan citólogos como Reinke, para quienes el retículo protoplásmico (ó un sistema fibrilar equivalente) atravesaría la susodicha membrana y se continuaría con el armazón nuclear. Pero estas opiniones parecen poco verosímiles.

Sobre que la movilidad del núcleo y su fácil dislocación hacia la periferia se compagina mal con la existencia de tales sujeciones trabeculares, se conocen varias observaciones resueltamente negativas. Nada es más fácil que sorprender en las células nerviosas la total independencia de las neurofibrillas (equivalentes al retículo protoplásmico) de la membrana nuclear, sobre la cual se apoyan sin insertarse. Observaciones recientes efectuadas por nosotros en el *Oniscus* (células intestinales) con el método del nitrato de plata re-

ducido, nos han permitido advertir también que las hebras protoplásmicas marchan asociadas en haces desde el polo profundo al superficial del corpúsculo, sin interrumpirse al nivel de la cubierta nuclear. Tampoco los haces de hilos residentes en el protoplasma de los corpúsculos epitélicos con pestañas, contraen conexiones nucleares. En fin, Retzius (1913), confirmando una antigua opinión de Flemming, presenta al núcleo como completamente independiente del armazón protoplásmico *(mitom)*.

CAPÍTULO VIII

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA CÉLULA

Protoplasma. — Diversas son las especies químicas constitutivas del protoplasma. He aquí las principales: 1.ª, agua y sales; 2.ª, materias alimenticias, es decir, destinadas á la nutrición celular; 3.ª, productos de secreción y excreción; 4.ª, proteídos ó principios protéicos de gran complicación molecular; 5.ª, materiales protéicos específicos ó funcionales.

1.ª *Aguas y sales.* — El agua representa el factor más abundante del protoplasma, en donde cumple los oficios de disolvente de las materias alimenticias, secretorias y excretorias, y el de mantener los principios protéicos en estado coloide. Según Reinke, quien ha analizado el protoplasma del *Aetalium septicum,* el agua entra en la proporción del 71'6 por 100. El resto lo forman las substancias sólidas.

Las *sales* constituyen el 29 por 100 de este *substractum* sólido. Comprenden: la *cal,* en combinación con los ácidos *láctico, acético, fórmico, oxálico, fosfórico, sulfúrico* y *carbónico;* el *fosfato de magnesia* y de *potasa,* el *cloruro de sodio,* etc. La *reacción* del protoplasma vivo es alcalina.

2.ª *Materias alimenticias.* — Como tales se consideran los *hidratos de carbono,* la *materia glicógena* y diversos albuminoides, tales como la *albúmina,* la *globulina,* la *vitelina* (óvulos), etc. Estos últimos principios protéicos no forman parte de la construcción fundamental del protoplasma. De igual modo que los hidrocarbonados, sirven de materias primarias para las complicadas y variadas síntesis protéicas de que el protoplasma y núcleos vivos son teatro.

Las *grasas* constituyen también componentes normales de todas las células, presentándose, ya en forma libre, ya en estado

de jabones. En fin, no suelen faltar la *colesterina* (compuesto ternario de carbono, hidrógeno y oxígeno), de ordinario disuelto en la grasa, y las *lecitinas,* especie de grasas fosforadas de gran complicación molecular. Existen varias lecitinas, individualizadas por las especies de ácido graso y de bases azoadas que contienen.

3.ª *Materias segregadas y excretadas.* — En la categoría de *secreciones* figuran los fermentos y *zimógenos,* variables según las especies celulares, y particularmente abundantes en los corpúsculos glandulares. Como *excreciones* pueden estimarse algunos productos protéicos intracelulares, como la *mucina* y todos aquellos que el protoplasma descarta de sí, depositándolos en las substancias amorfas y líquidos glandulares *(colágena, elastina, ácido condrótico, urea, ácido-amídicos, fenoles,* etc.). Quizás á los fenoles se deba la acción reductora del protoplasma, puesto que éste es capaz de cambiar la sales férricas en ferrosas, y de decolorar el carmín de índigo y azul de metileno (Ehrlich), que en cuanto penetran en la célula se convierten en leuco-derivados. Si los órganos impregnados de azul de metileno se ponen en contacto del aire, el leuco-derivado se oxigena y el tono azul reaparece.

4.ª *Proteídos.* — Los principios organizantes del retículo y demás organitos vivientes del protoplasma, son, según resulta de las modernas investigaciones de Kössel, Hammarsten, etcétera, los *fosfo-proteídos,* principios inmediatos de molécula complegísima y sumamente inestables.

Tres órdenes de proteídos han sido aislados en la célula: los *cito-proteídos* (para emplear la expresión de Prenant), principios constitutivos del protoplasma; los *glico-proteídos,* y los *nucleo-proteídos,* que se alojan en el núcleo.

Tanto los *cito* como los *nucleo-proteídos,* son albuminoides fosforados, insolubles en agua pura y reactivos ácidos, solubles en álcalis diluídos. Constan de una molécula albuminoide de función básica *(protamina, histona, albúmina, globulina,* etcétera) combinada con otra molécula de función ácida.

Nucleo-proteídos. — Residen en el núcleo y resultan de la combinación de un *principio albuminoide* que obra como base

(histon) con la *nucleína,* que goza de función ácida. A su vez, la nucleína puede desdoblarse en albúmina y ácido nucléico, según aparece en la adjunta tabla:

Nucleo-proteído.
Albúmina (histon). *Nucleína.*
Albúmina. *Acido nucléico.*

Los *ácidos nucléicos,* constitutivos de la nucleína, desdóblanse á su vez en bases *(adenina, guanina,* etc.) y *ácidos tímicos,* que quizá son glicerofosfatos azucarados de bases neurínicas (Prenant).

Existen muchas especies de nucleo-proteídos que son diferenciables por la diversa *cantidad* de fósforo que contienen.

Cito-proteídos. — A diferencia de los nucleo-proteídos, los *cito-proteídos* encierran, como cuerpo ácido combinado con la base albuminoide, no la *nucleína,* sino uua *citeína ácida,* ó sea una *paranucleína* que, á su vez, resulta de la unión de una molécula albuminoide básica con un ácido correspondiente al *nucléico,* pero que en este caso es un ácido semejante al *tímico,* es decir, un ácido nucléico menos las bases púricas. En suma, la ausencia de nucleína, reemplazada por otros principios protéicos de función ácida, y el hecho de no dar éstos, como la nucleína al desdoblarse, bases *púricas (adenina, guanina,* etc.), son los rasgos que separan los *cito-proteídos* de los *nucleo-proteídos.*

Accesoriamente, contiene también el protoplasma *glico-proteídos,* materias protéicas complejas susceptibles de desdoblarse en albuminoides y azúcares.

5.ª *Materias protéicas específicas.* — Aparte la composición química general, ciertas células poseen, para el desempeño de su peculiar actividad, substancias especiales de gran complicación molecular. De ellas trataremos al estudiar los tejidos. Limitémonos por ahora á mencionar la *hemoglobina,* substancia colorante albuminoide de los glóbulos rojos; la *melanina,* alojada en los corpúsculos pigmentarios; la *miosina* ó el *miosígeno,* constructor de la fibra muscular estriada; la *keratina,* peculiar de los elementos epidérmicos y pilosos, etc.

Núcleo.—Seguramente enciérranse en este órgano celular algunas de las categorías de principios que dejamos apuntados (nucleo-proteídos, fermentos hidro-carbonados, grasas, sales, etcétera); mas hasta hoy, el análisis histo-químico no ha permitido establecer su localización ni puntualizar sus especies. En cambio, ha sido dado reconocer ciertos principios inmediatos, no bien estudiados aún desde el punto de vista de su composición molecular, y de que hemos hablado ya en las precedentes lecciones. Son éstos:

a) La *cromatina* ó *nucleína,* materia caracterizada por su colorabilidad en el carmín y hematoxilina, por su resistencia á los ácidos diluídos y por su solubilidad en los álcalis débiles; reside exclusivamente en el armazón nuclear.

b) La *pirenina* es el principio especial de que están construídos los nucleolos verdaderos. Esta materia resiste á los álcalis diluídos (al revés de la nucleína, que se disuelve), á la solución de cloruro de sodio al 20 por 100, á las soluciones saturadas de sulfato de magnesia, y en parte hasta á la digestión en *tripsina.*

c) La *linina* es la materia que liga entre sí los granos de cromatina para formar un retículo continuo; constituye, por tanto, la substancia acromática del retículo. Se caracteriza químicamente por disolverse en la tripsina y agua de cal, por precipitar por los ácidos diluídos, hincharse en sal al 20 por 100, ser insoluble en el sulfato de cobre, etc.

d) La *paralinina* habita en el jugo nuclear, y es soluble en tripsina y jugo gástrico, insoluble en ácido clorhídrico al 20 por 100 é inalterable en los reactivos de la cromatina.

e) La *anfipirenina* residiría en la membrana nuclear y se caracterizaría por ser más soluble en la tripsina que la pirenina y por no ser atacable por la sal al 20 por 100, el sulfato de cobre, ácidos diluídos, etc.

Los cuerpos precedentes, diferenciados por los histólogos mediante el análisis cito-químico, no deben estimarse como especies químicas. Parece probable, después de los recientes estudios de Kössel, Lilenfield, Hammarsten, etc., que tales substancias representan agregación de varios principios protéicos insuficientemente conocidos. Así, las expresiones *cromatina, linina, pirenina,* etc., conservan hoy

un valor morfológico. Designan órganos nucleares complejos, diferenciables por los reactivos, pero no substancias específicas.

En realidad, los únicos principios inmediatos bien individualizados y conocidos del núcleo, son los *nucleo-proteídos* de que antes hemos hablado. Estos abundan particularmente en la llamada cromatina, á la que prestan sus peculiares afinidades tintóreas. Al *ácido nucléico* de la *nucleína* se debe en gran parte la coloración que, en presencia de las anilinas básicas, adquiere el armazón nuclear cromático. Para ciertos autores, el *nucleo-proteído* se descompone y se forman *nucleinatos de rosanilina, de azul de metileno,* etc., es decir, verdaderas sales en que la materia colorante ejercita la función básica (*teoría química* de la coloración).

Por lo demás, el estudio de los componentes esenciales del protoplasma y núcleo está rodeado de grandes dificultades. Visto lo precario de la exploración microquímica, el biólogo se ve obligado á someter al análisis masas de tejidos donde se comprenden materias amorfas, pábulos alimenticios, componentes celulares y materias de excreción. En tales condiciones, compréndese bien cuán grande será el riesgo de confundir lo permanente y principal con lo eventual y accesorio, es decir, los verdaderos factores constructivos de la máquina celular con las reservas alimenticias y los productos de la desasimilación. Añadamos que los materiales protéicos del protoplasma y núcleo son sumamente inestables y sufren continuas transformaciones. La vida celular misma no es sino el resultado de las descomposiciones y recomposiciones de un sistema químico extremadamente complejo.

En presencia de compuestos protéicos tan delicados é inestables, la intervención de los reactivos induce cambios inesperados y provoca la producción de cuerpos más simples que los preexistentes. Un juicio poco severo podría fácilmente confundir lo muerto con lo vivo y atribuir á la máquina protoplasmática en acción lo que resulta de su desintegración y mortificación.

CAPÍTULO IX

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS DE LAS CÉLULAS

Irritabilidad. Excitantes de la irritabilidad. Clasificación de las actividades celulares. División del trabajo. Funciones nutritivas de las células.

Como expusimos ya en las generalidades sobre los elementos anatómicos, la célula es un ser viviente que, en medio de su subordinación al conjunto orgánico, goza de cierta autonomía funcional.

La virtud que toda célula viva posee de entrar en acción bajo la provocación de los estímulos exteriores, se llama *irritabilidad. Irritación* designa la irritabilidad en acto ó en ejercicio.

La irritación depende de dos condiciones: la presencia de la máquina celular en sus integridades morfológica y química, y las variaciones químicas ó dinámicas del medio pericelular, variaciones que se designan generalmente con el nombre de *estímulos* ó de *excitantes*.

Se sigue de aquí, que la célula no puede entrar en función espontáneamente, sino que necesita siempre del concurso de un estímulo de origen exterior que conmueva su mecanismo y despierte sus actividades. La energía que la célula despliega en sus movimientos, no es otra cosa que la reflexión de las energías que, ya en estado de tensión, ya en forma de fuerzas vivas, llegaron del mundo exterior.

En las células federadas constitutivas del organismo de los animales superiores, los estímulos son de dos clases: *físico-químicos* (toda variación de composición química ó todo cambio dinámico del medio pericelular); y *vitales,* es decir, las excitaciones provocadas por otros elementos, tales como las células nerviosas, etc.

En los seres mono-celulares, los estímulos son siempre físico-

químicos. Ahondando en el mecanismo de los estímulos, se ve que todos ellos, aun los vitales, proceden, en definitiva, del mundo exterior.

El mismo estímulo, en igualdad de condiciones, provoca en la célula la misma manifestación; pero todas las células no responden idénticamente á la influencia del mismo estímulo. Esto depende de la especial estructura de cada una. Así, el calor, los agentes químicos, los contactos, etc., desenvuelven en los leucocitos fenómenos de contracción; en las células nerviosas, descarga de corrientes; en las fibras musculares, la retracción en un solo sentido, etc. Semejante propiedad, llamada *especificidad de la reacción,* aparece, sobre todo, en los elementos notablemente diferenciados.

Otro interesante atributo consiste en la desproporción entre la cantidad del estímulo y la energía de la reacción. Para que una célula responda á la acción de un excitante, es preciso que éste alcance cierta intensidad *(dintel* de la excitación), sin sobrepasar, empero, cierto límite. En general, cabe afirmar que los esfuerzos reaccionales crecen más aprisa que los estímulos y llegan rápidamente al máximo.

Pueden distribuirse los estímulos de origen exterior, como propone O. Hertwig, en cinco grupos: estímulos *térmicos, luminosos, eléctricos, mecánicos* y *químicos.*

Temperatura. — Elevando la temperatura del medio de 40° á 50°, mueren ya muchos infusorios, así como muchas células de tejido de los animales. Un calor moderado aviva los movimientos amiboides. El frío es resistido mejor que el calor, particularmente por las plantas, cuyas células pueden volver á la vida, aun cuando el jugo celular aparezca más ó menos congelado.

Luz. — La piel del camaleón, la de la rana, la de los cefalópodos, etc., presenta unas células conjuntivas estrelladas, cuyo protoplasma alberga granos de pigmento. Bajo la acción de la luz, estas células *(cromatóforos)* retraen sus expansiones, y como el pigmento ocupa menos extensión superficial, la piel del animal se aclara; lo contrario sucede en la obscuridad, donde el pigmento se extiende y la piel se obscurece. Si, mediante el cloroformo, se paralizan los cromatóforos del camaleón (por acción

local sobre la piel), la luz no induce en ellos contracción alguna hasta que el narcótico es eliminado.

Más adelante, al tratar de los epitelios, veremos que en la retina existen también ciertos corpúsculos (capa pigmentaria) cuyos granos melánicos cambian de posición bajo el influjo de la luz.

La influencia de la luz sobre ciertas algas é infusorios, no es menos curiosa. Así, cuando se ilumina parcialmente una preparación en que se conservan *euglenas* vivas *(Euglena viridis)*, estos infusorios se acumulan rápidamente en la región iluminada.

En las foliolas de ciertas plantas obsérvase un curioso cambio de posición de los cloroblastos bajo la influencia de la luz. Si ésta es escasa, se acumulan en la porción superficial de la membrana, mientras que, en la obscuridad y al sol, ocupan las paredes profundas y perpendiculares de las células.

Electricidad. — Las corrientes de inducción determinan contracciones y como apelotonamiento del protoplasma de las células de la *tradescantia* (pelos estaminales), suspendiendo las corrientes de granitos. En los leucocitos, se encogen rápidamente los pseudopodos, adquiriendo el cuerpo celular forma redondeada.

Verworn ha descrito, con el nombre de *galvanotropismo*, un fenómeno curioso. Cuando se pone en el porta-objetos eléctrico una gota de agua que contenga numerosos ejemplares de *Paramacyma aurelia*, estos protistos se orientan en el sentido de las curvas de corriente y se acumulan en el polo negativo. En cambio, un infusorio ciliado, el *Spirostonum ambiguum*, sometido á las mismas condiciones, no se mueve, pero sí adopta una dirección perpendicular á las líneas de fuerza.

Excitantes mecánicos. — El simple contacto con otros elementos provocaría, según Massart y Bordet, la contracción de los leucocitos. El contacto con un cuerpo extraño suscita en las fibras musculares un acto de contracción, y en las nerviosas la producción de una corriente.

Excitantes químicos. — Son los de influencia más general, aunque menos conocida. Indicaremos aquí algunos de aquellos cuya acción se ha estudiado mejor.

El *oxígeno* excita los movimientos de los leucocitos y de casi todas las células susceptibles de contraerse. La sensibilidad de ciertos microbios (aerobios) por el oxígeno es tan grande, que pueden emplearse como reactivo de mínimas cantidades de este gas. Si, á ejemplo de Engelman, se pone en una gota de agua que contenga microbios una alga microscópica, la pequeña cantidad de oxígeno que ésta exhala en presencia de la luz, atrae rápidamente las bacterias, las cuales acaban por rodear completamente el vegetal. En la figura 107 reproducimos una figura de Verworn, donde puede verse el enjambre microbiano que rodea la minúscula planta en cuanto se hace caer sobre ella un rayo de sol.

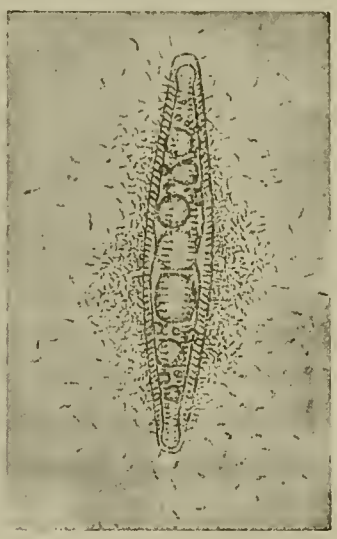

Fig. 107.—Enjambre de microbios que acuden á las inmediaciones de un alga expuesta á la luz. (Según Verworn).

El *éter,* el *cloroformo,* el *hidrato de cloral,* suspenden rápidamente los movimientos del protoplasma y hasta la evolución del óvulo fecundado. Eliminados estos agentes, las funciones vitales se restablecen.

Entre las acciones determinadas por agentes químicos, una de las más interesantes es la que Pfeiffer ha llamado *quimiotaxis.* Es la propiedad que tienen muchos microorganismos, y los mismos leucocitos de la sangre, de ponerse en movimiento en la dirección de las corrientes de difusión determinadas por un agente químico, que se designa *substancia reclamo* ó *substancia quimiotáctica.* Este fenómeno, señalado primeramente por Pfeiffer en los zoospermos de las criptógamas, ha sido estudiado recientemente en los leucocitos, por Büchner, Massart y Bordet, Gabritchewsky, Metchnikoff, etc. Cuando se abandona bajo la piel de un animal un tubito capilar cerrado por un extremo, y lleno en parte de una substancia disuelta, puede ocurrir una de estas tres cosas: ó que el tubo se haya llenado de leucocitos, ó que no haya penetrado ninguno, antes bien se hayan alejado de la substancia

en cuestión, ó que sólo se haya insinuado alguno que otro, y esto de modo inconstante. En el primer caso, la substancia se llama *quimiotáctica positiva* ó materia *reclamo;* en el segundo *quimiotáctica negativa,* y en el tercero *quimiotáctica indiferente.* Las materias reclamos más enérgicas están representadas por los productos elaborados por las bacterias y acaso por los principios derivados de la descomposición de éstas (Büchner), lo que explica el notable acúmulo de leucocitos que tiene lugar en los parajes del organismo donde se han intrusado ciertos microbios *(staphilococcus pyogenes aureus, streptococcus pyogenes, bacillus anthracis,* etc.). La sensibilidad quimiotáctica es tan exquisita á veces, que Pfeiffer ha visto anterozoides de una criptógama reaccionar en presencia de $^1/_{100000}$ de ácido málico.

Probablemente todo cadáver celular exhala materias quimiotácticas positivas, dado que los leucocitos suelen englobar cuantos detritus y pedazos celulares encuentran en su camino, para llevarlos al bazo ó eliminarlos á través de las superficies libres. En algunos casos cabría suponer también la influencia de la excitación táctil del leucocito al chocar con cuerpos extraños.

Clasificación de las actividades celulares. — Las modalidades de la irritación pueden condensarse en tres grupos: fenómenos de la vida de relación, tales como movimientos; fenómenos de la vida nutritiva (asimilación, desasimilación, respiración, secreciones), y fenómenos de la vida generativa (división celular y conjugación).

División del trabajo. — En la época embrionaria, cuando las hojas blastodérmicas no se han formado aún, los elementos del embrión no parecen tener otras funciones que las de nutrirse y reproducirse; pero en cuanto se constituye el mesodermo con sus diversas derivaciones, y el ecto y entodermo, con aquellos plegamientos que se convertirán, andando el tiempo, en médula espinal y en intestino, comienza á establecerse la división del trabajo, entregándose cada tejido á una labor particular. Y es de notar que esta división del trabajo precede en el embrión á la diferenciación anatómica. Así, las células cardíacas, mucho antes de mostrar su estriación protoplasmática característica, dan comienzo á sus contracciones; las células sanguíneas, antes

de modelarse definitivamente, se entregan ya á su especialidad funcional de formar hemoglobina y atraer el oxígeno, etc.

Concluída la evolución del organismo, cesa asimismo el reparto de papeles en la escena orgánica. Cada célula, sin dejar de cultivar las actividades generales de nutrición y generación, perfecciona una ó varias funciones, que constituirán su profesión orgánica y su título, digámoslo así, á la participación de los recursos nutritivos en la gran república celular. Las actividades nutritiva y proliferativa, verdaderos gajes de la vida social de las células, sólo en casos contadísimos son sacrificadas en aras

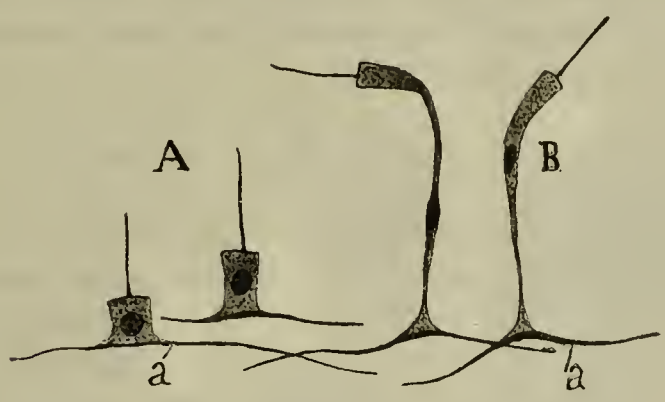

Fig. 108. — Células epitelio-musculares del epidermis de la *actinia*. — A, tipos cortos; B, tipos más largos; *a*, fibra muscular rodeada del protoplasma epitelial. (Según R. Hertwig y Bergh).

del principio de la división del trabajo. Por excepción, puede citarse la célula nerviosa, que, entregada á la importante labor de poner en relación todas las partes del organismo y de presidir y reglar el trabajo y nutrición de los demás elementos, ha renunciado el derecho á la reproducción.

En la serie filogénica se cumple también, como en la evolución ontogénica, el principio de la división del trabajo. Conforme se asciende en la escala animal, las células primitivamente autónomas y entregadas á toda suerte de actividades, se distribuyen en tejidos, cada uno de los cuales regenta un oficio particular. En general, este proceso de diversificación anatomo-fisiológica implica repartición de papeles diferentes en elementos y tejidos especiales. Mas, en ocasiones, antes de que se pro-

duzcan elementos específicos para actividades especiales, un mismo corpúsculo puede adaptar porciones separadas de su protoplasma á fines fisiológicos diversos. En capítulos anteriores hemos llamado la atención acerca de la complejidad estructural y pluralidad orgánica y funcional de los infusorios y demás células independientes. Cosa análoga se da también en muchos metazoarios inferiores. Por ejemplo, en las *actinias,* el tegumento encierra ciertas células, llamadas *neuro-epitélicas* ó *epitelio-musculares,* cuyo cuerpo se ha diferenciado en dos porciones separadas: una exterior, probablemente sensible á las excitaciones llegadas del ambiente *(porción nerviosa),* y otra profunda, dispuesta en fibra tangencial y que tiene la significación de *fibra muscular* (fig. 108, *a).*

FUNCIONES NUTRITIVAS DE LAS CÉLULAS

Los elementos anatómicos poseen la virtud de reaccionar sobre el ambiente en que viven, eligiendo y asimilándose las materias susceptibles de reponer los desgastes sufridos en el ejercicio de las actividades funcionales ó profesionales.

Para comodidad expositiva, distinguiremos en el proceso nutritivo varios actos: prehensión, absorción, digestión, asimilación, desasimilación, respiración y secreción.

Prehensión del alimento. — Los animales monocelulares, tales como los amibos é infusorios, que se alimentan de presas muertas ó vivas, pueden ejecutar verdaderos actos de prehensión y englobamiento. En los amibos, la prehensión se verifica con ayuda de ciertas expansiones emitidas por el protoplasma, las cuales agarran la partícula alimenticia y la conducen al espesor del cuerpo celular; en éste permanece hasta sufrir, caso de ser digestible, una verdadera digestión. En los infusorios, la prehensión del alimento se efectúa á favor de pestañas ó flagelos contráctiles, órganos permanentes de locomoción del animal.

Las células fijas de tejido de los animales no necesitan consagrarse á la pesquisa del alimento; gracias á la división del trabajo, la prehensión, selección y disolución de aquél, corre á cargo de ciertos tejidos (muscular, glandular, epitelial, etc.),

cuya labor armónica tiende á formar, entre los corpúsculos de tejido, un medio químico adecuado á la reparación nutritiva.

La célula animal federada no se alimenta, sino que es alimentada, siendo de su incumbencia solamente elegir las substancias más apropiadas á su nutrición y al desempeño de su profesión orgánica. Por excepción, los leucocitos y algunos corpúsculos conectivos de los animales superiores, han conservado, y acaso perfeccionado, el hábito de devorar cuerpos extraños vivos ó muertos, y de someterlos á un acto de digestión intraprotoplásmica.

Esta función de los leucocitos y células conectivas, ha sido llamada *fagocitosis* por Metchnikoff, quien le concede grande importancia, pues le atribuye la defensa del organismo contra las agresiones de los microbios patógenos.

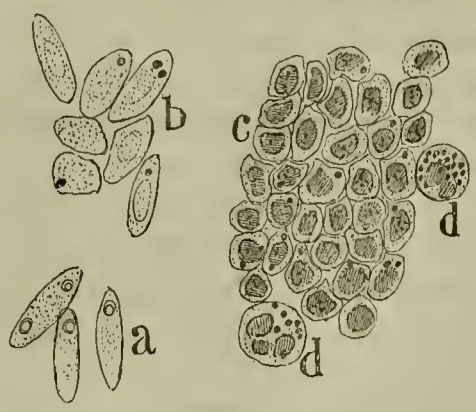

Fig. 109.—Plaquetas de la sangre de rana con microbios fagocitados.—*d*, leucocitos conteniendo microbios.

Por lo demás, la fagocitosis no es solamente un fenómeno de defensa, es también un proceso fisiológico indispensable á la organización definitiva de ciertas partes. La absorción de los órganos larvares (cola de renacuajo, etc.); la desaparición de vasos embrionarios en partes que no deben tenerlos (epiplón mayor del conejo, etc.); la demolición del hueso embrionario; la desaparición de los hematíes gastados; la destrucción y remoción de las células muertas ó agostadas, son actos que los leucocitos realizan, aprovechando al efecto su cualidad de agarrar y encarcelar todas las partes sólidas y de tamaño no muy grande que encuentran en su camino. Es probable que influyan también en este fenómeno las variaciones de tensión superficial protoplásmica.

Absorción. — Así se llama el acto en virtud del cual penetran y se esparcen por la célula las substancias alimenticias disuel-

tas. Semejante fenómeno no es un proceso puramente físico, pues la célula escoge ciertas substancias y rechaza otras.

Digestión.—La célula no se incorpora los materiales del medio en el estado en que los encuentra, sino que los hace sufrir cambios especiales con ayuda de fermentos semejantes á los segregados por las glándulas. Esta actividad digestiva debe ser mucho más eficaz en los microorganismos independientes y leucocitos que se alimentan, tanto de substancias disueltas, como de partículas insolubles. Algunos microbios derraman fermentos sobre el terreno mismo en que vegetan, para reblandecerlo y transformarlo en líquido alimenticio.

Del mismo modo, las células de las plantas, durante el tiempo de la germinación, se alimentan de las reservas nutritivas almacenadas en las semillas y tubérculos. Estos materiales (almidón, grasas, azúcares, albuminoides) son absorbidos, previa disolución operada por diastasas especiales, análogas á las segregadas por el aparato digestivo de los animales. En el período adulto, la planta, en vez de gastar reservas, las crea, apelando á materiales sustraídos del aire ó del terreno.

Asimilación. — Consiste en la incorporación á la máquina celular, tanto de los principios arrebatados por la desasimilación, como de las reservas nutritivas que deben subvenir á necesidades funcionales ulteriores. Así, las células glandulares, no sólo asimilan lo necesario á la reparación de sus desgastes, sino las primeras materias destinadas á formar el producto secretorio.

Desde el punto de vista del trabajo químico efectuado en el protoplasma al utilizar los materiales alimenticios, difieren las plantas de los animales.

La *célula vegetal* aprovecha para su alimento materias minerales, particularmente el agua y el ácido carbónico. Con ayuda de la clorofila y del concurso de la luz, el protoplasma descompone el ácido carbónico del aire, se apodera del carbono y sintetiza el almidón, el azúcar, las grasas y hasta los mismos albuminoides, utilizando como factores químicos el agua, el ácido nítrico y sulfúrico del suelo.

La *célula animal* se alimenta de las materias orgánicas sintetizadas por el vegetal; el almidón, los azúcares, las grasas y los

materiales protéicos, substancias que transforma en otros principios y que destruye por oxidación.

Dinámicamente, la *célula vegetal* es una máquina que transforma fuerza viva en fuerza de tensión, y químicamente, representa un laboratorio donde dominan los fenómenos de reducción sobre los de oxidación.

Dinámicamente, la *célula animal* es un aparato que transforma las fuerzas de tensión en fuerzas vivas, y químicamente, un laboratorio donde dominan los fenómenos de combustión ú oxidación.

Cuando la asimilación contrapesa exactamente las pérdidas sufridas, la célula mantiene estrictamente su volumen; mas si lo incorporado domina sobre lo desasimilado, se opera un aumento de tamaño.

Este crecimiento se observa, sobre todo, en la época embrionaria, durante la cual, ciertos elementos pueden adquirir una estatura tres ó cuatro veces más grande que la originaria. El crecimiento es, en ciertos casos, *bilateral,* como ocurre en las células musculares; *unilateral,* como sucede en los prismas cristalinos; y *multilateral,* como en las células nerviosas. El crecimiento excéntrico, uniforme, se verifica en el óvulo y las células adiposas.

Verosímilmente, el crecimiento multilateral, es decir, de determinados puntos del contorno celular, obedece á influencias quimiotácticas (véase más atrás) negativas y positivas. Así, el crecimiento de un capilar embrionario, hasta encontrar otro capilar con el cual se suelda para engendrar un travesaño anastomótico intervascular, se explicaría suponiendo que el protoplasma endotelial se impresiona por alguna substancia derramada por los capilares vecinos, y capaz de provocar, por una suerte de reacción amiboide, nuevos apéndices. De la misma manera cabría comprender, según indicamos nosotros hace tiempo (1890), el crecimiento de las fibras nerviosas y la creación de conexiones intercelulares. Por lo demás, la influencia de las alteraciones químicas del medio en el proceso de formación y crecimiento de las expansiones nerviosas es hoy un hecho incontrovertible, merced á los experimentos de trasplantación ganglionar efectuados por Nageotte (1907) y Marinesco, y comprobados por L. Cardenal y nosotros (1909). En efecto, basta ingertar bajo la piel de un conejo adulto un ganglio nervioso procedente de otro conejo recién na-

cido, para que á los pocos días las células supervivientes se tornen de monopolares en multipolares y generen largas y ramificadas expansiones nerviosas, las cuales crecen como en busca del oxígeno, y más á menudo hacia los conglomerados de células muertas, constituyendo en torno de éstas plexos y ovillos complicadísimos.

El mismo fenómeno de vegetación ocurre en los elementos gangliónicos cultivados en plasma (Cajal, Legendre y Minot, Marinesco, etc.).

Desasimilación. — Es el acto en virtud del cual una parte de los materiales de la célula se disuelve y transforma, pasando al medio ambiente, para ser total ó parcialmente eliminada. En su esencia, la desasimilación es tan enigmática como la asimilación: vemos los resultados, pero ignoramos las causas.

Respiración. — La célula atrae el oxígeno disuelto en los plasmas que la rodean, al objeto de quemar una parte de sus materiales de reserva y de organización, y producir ácido carbónico, vapor de agua y calor, que acaso aproveche el protoplasma como manantial de fuerza viva para ejecutar trabajo útil. El oxígeno aborda la intimidad de los tejidos, conducido por los hematíes, de cuya hemoglobina se aparta á la menor solicitación de parte de las células.

Secreciones y excreciones. — Propiamente, llámase *secreción* el acto por el cual las células engendran materias especiales, disueltas ó amorfas (diastasa, pepsina, tripsina, ácido hidroclórico, etc.), destinadas á operar la digestión de los alimentos. Esta función corre principalmente á cargo de las células glandulares (glándulas mamaria, hepática, pépsicas, salivares, etc.).

Excreciones. — Son las substancias desasimiladas, impropias para la nutrición, que, después de circular por la sangre, deben ser eliminadas por ciertas glándulas (riñón, hígado, etc.).

Dependiendo la formación de substancias excrementicias del acto mismo de la desasimilación y desgaste celular, todo elemento vivo será capaz de producir excreciones. Entre ellas, unas son líquidas, se difunden rápidamente á lo lejos, y son arrastradas por la sangre y linfa á los emunctorios naturales; pero otras se solidifican en cuanto salen del protoplasma, permaneciendo alrededor de la célula, y constituyendo las *cápsulas* y las *materias amorfas* ó *intercelulares*.

Si el producto de secreción se exhala por una de las caras de la célula, fórmase lo que se llama *chapa* ó *cutícula* celular. Tal acontece en los elementos epiteliales del tubo digestivo, en los prismas cristalinos (formación de la cápsula), y en las células más profundas del cuerpo de Malpigio. En la piel de muchos animales, particularmente en la de los insectos, las células pueden elaborar un número extraordinario de chapas superpuestas.

Cuando el producto segregado se derrama indistintamente por todos los lados de la célula, constrúyese una gruesa *cápsula* (óvulo, células cartilaginosas), es decir, una membrana espesa, transparente, cuyo grosor guarda relación con la edad del corpúsculo secretor.

Por último, la materia amorfa ó intercelular, tan abundante en los tejidos cartilaginosos, óseo y conjuntivo, depende de que, siendo muchas las células secretorias, el producto de cada una se confunde, elaborándose grandes masas intersticiales, donde no es posible marcar la obra individual de cada elemento.

Muerte de las células. — El organismo es como un pueblo, cuyos individuos se renuevan muchas veces durante la vida de la colectividad.

Hay elementos cuya vida dura solamente algunos días, verbigracia, los elementos epiteliales de la piel y los de algunas glándulas; otros, como los cartilaginosos, musculares y conjuntivos, prolongan su vida varios años; pero á todos superan en longevidad los nerviosos, que subsisten tanto como el organismo.

El grado de vulnerabilidad, y, por tanto, la mayor ó menor facilidad de muerte accidental, varían para cada tejido. La menor oscilación de temperatura ó de composición del medio nutritivo, aniquila las células nerviosas y musculares; en cambio, ciertos epitelios, los leucocitos, los corpúsculos conjuntivos, etc., soportan impunemente alteraciones bastante graduadas de calor y de medio alimenticio, etc.

De esta resistencia se saca partido para observar vivos estos elémentos y sorprender sus actividades fisiológicas. Semejante persistencia vital, fuera de las condiciones mesológicas normales, se advierte, sobre todo, en los animales de sangre fría. En general, puede afirmarse que la vida celular es tanto más resis-

tente y autónoma, cuanto menos diferenciación alcanza la célula en el desempeño de una actividad funcional específica.

El *modo de muerte* tiene origen, unas veces por sobrecarga de materiales extraños (grasa, eleidina, keratina, hemoglobina, etcétera); otras por una suerte de disolución (óvulo no fecundado, células granulosas de la vesícula de Graaf, leucocitos, etcétera).

La *remoción del cadáver* se efectúa, ya por simple desprendimiento en una superficie inmediata (epitelios), ya por *fagocitosis*. En este caso, la célula muerta es englobada por leucocitos y acaso destruída en el bazo ó en la médula ósea.

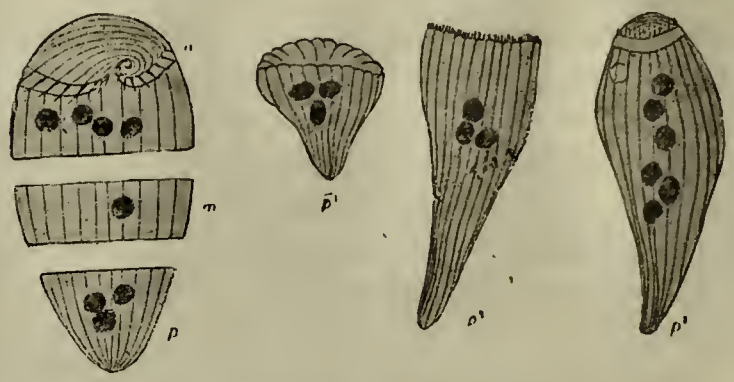

Fig. 110. — Merotomía de un infusorio. — P^1, P^2 y P^3, fases por que atraviesa uno de los pedazos provistos de núcleo hasta convertirse en individuo adulto. (Según Balbiani).

Acción del núcleo en la vida nutritiva de la célula. — El núcleo aislado, como el protoplasma aislado, son incapaces de vivir. Según la expresión de Watase, forman una *simbiosis,* es decir, una asociación mutualista comparable á las formadas por algas y líquenes ó la hidra y sus cloroblastos. Si, á ejemplo de Nussbaum, cortamos en fragmentos un infusorio, sólo el trozo que albergue el núcleo continuará viviendo, y reparará lo que falta. En rigor, el fragmento nucleado subsistirá algún tiempo, pero, siendo incapaz de regenerar su lesión y de sintetizar materias orgánicas, en cuanto agota sus reservas alimenticias, perece.

En la figura 110 reproducimos las fases por que atraviesan los pedazos nucleados de un *Stentor* merotomizado, según Balbiani.

El núcleo desempeña importante papel en la secreción y asimilación de la célula. En los vegetales en vías de crecimiento es frecuente sorprender el núcleo en el paraje en que el movimiento de expansión y asimilación es más enérgico. Entre los ejemplos más interesantes citados por los autores, están los apéndices piliformes de las raíces del *Phaseolus,* donde se ve que el pelo brota constantemente en la región nuclear del protoplasma y que el núcleo se disloca insinuándose en el apéndice recién formado (fig. 111).

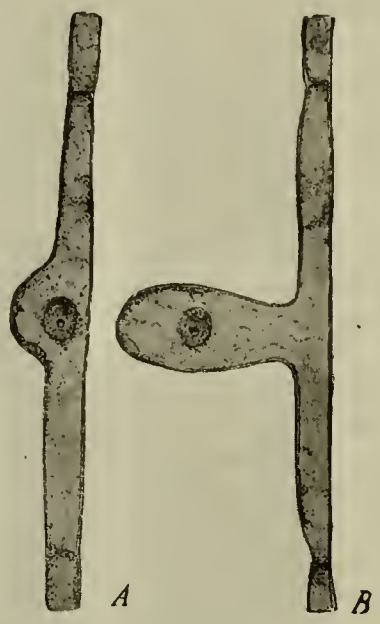

Fig. 111. — Formación en la región nuclear de los pelos radicales del *Phaseolus* de apéndices protoplásmicos.

Otro buen ejemplo del influjo nuclear sobre la capacidad asimilativa del protoplasma, se nos ofrece en la regeneración de los nervios después de su sección.

Según veremos más adelante, cada nervio representa un haz de prolongaciones *(axones* ó *fibras nerviosas)* del protoplasma somático ó cuerpo neuronal, dentro del cual residen el núcleo y las reservas nutritivas. Cuando se interrumpe la continuidad del nervio, ambas porciones ó cabos compórtanse de muy diversa manera, según probaron hace tiempo Waller y numerosos histólogos. El *cabo periférico* ó porción privada del núcleo, degenera y muere rápidamente. En cambio el *cabo central,* que mantiene su continuidad con la región celular portadora del núcleo, no sólo subsiste íntegro, sino que es asiento de activa asimilación, y retoñando y creciendo, acaba por restablecer la porción nerviosa destruída.

Vida extraorgánica de la célula ó cultivos celulares. — La empresa de aislar y hacer vivir fuera del organismo ciertos elementos, fué ya abordada hace tiempo. Remak, Schültze, Ranvier, Kölliker, Arnold, etc., etc., lograron observar durante horas y aun días, tanto en plasma linfático como en líquidos salinos isotónicos, los movi-

mientos vitales de leucocitos, células conectivas jóvenes, corpúsculos musculares (insectos), epitelio vibrátil, etc. El leucocito, sobre todo, nos sorprende por su singular capacidad de aclimatación extraorgánica y también por su resistencia á la congelación y sobriedad alimenticia. Jolly (1913) ha logrado mantener vivos los glóbulos blancos de la rana nada menos que dieciocho meses y medio. Pero reparemos que las precedentes observaciones, fundamentales para la teoría celular, puesto que nos revelan la autonomía de las unidades vivientes y su relativa independencia de la circulación é inervación, no prueban que los elementos histológicos sean capaces de expatriarse, reproduciéndose indefinidamente en medios artificiales al modo de las bacterias y de ciertos protozoarios. Semejante colonización *in vitro* fué siempre considerada por la biología tradicional cual empresa inabordable.

Y sin embargo, esta hazaña biológica ha sido en parte realizada modernamente por los biólogos de diversas Universidades americanas.

Como en las conquistas más resonantes, la actual se ha producido por etapas. Ya en 1898, Leo Loeb logró transplantar con éxito trozos de epitelio sobre extensas úlceras y heridas, comprobando que los corpúsculos ingertados conservan su vitalidad sobre el nuevo terreno, se nutren por imbibición, y, sobre todo, proliferan abundantemente. Más tarde Harrison (1906) ejecutó un experimento de género algo diverso, pero muy rico en rendimiento teórico. Este neurólogo americano probó que, cuando un trozo de médula espinal embrionaria (larva de batracio) se disocia en fragmentos pequeñísimos y éstos se montan en cámara húmeda y sobre plasma sanguíneo ó linfático del mismo animal, las neuronas motrices y sensitivas sobreviven muchos días y el microscopio permite sorprender el crecimiento y ramificación, al través del plasma, de las fibras nerviosas neoformadas.

Poco después (1907 á 1913) Burrows, Lewis, Lambert, Jaques Loeb, sin perjuicio de confirmar los descubrimientos de Harrison, aplicaron el método del cultivo en plasma á un nuevo y más interesante dominio: la multiplicación de los tejidos epiteliales y mesodérmicos. Y perfeccionando el citado método con la conservación en estufa y valiéndose de mezclas de plasma y líquidos iso ó hipotónicos (licor de Ringer, Locke, etc.), consiguieron verdaderas colonias de corpúsculos conectivos, epidérmicos, glandulares, musculares del corazón embrionario, y, sobre todo, de tumores, jamás cultivados con éxito hasta entonces.

En estos trabajos de colonización extraorgánica de las neoplasias malignas, sobresalieron: Carrel, quien consiguió, cultivando en plasma las células del sarcoma, hasta nueve generaciones ó cosechas

sucesivas, sin más precaución que mezclar al plasma líquidos salinos hipotónicos, y lavar de cuando en cuando la colonia en el licor de Locke para extraer los productos excrementicios; y Lambert, que ha hecho vegetar en serie, además de otros tejidos (conectivo, glandular), la trama del carcinoma y del sarcoma.

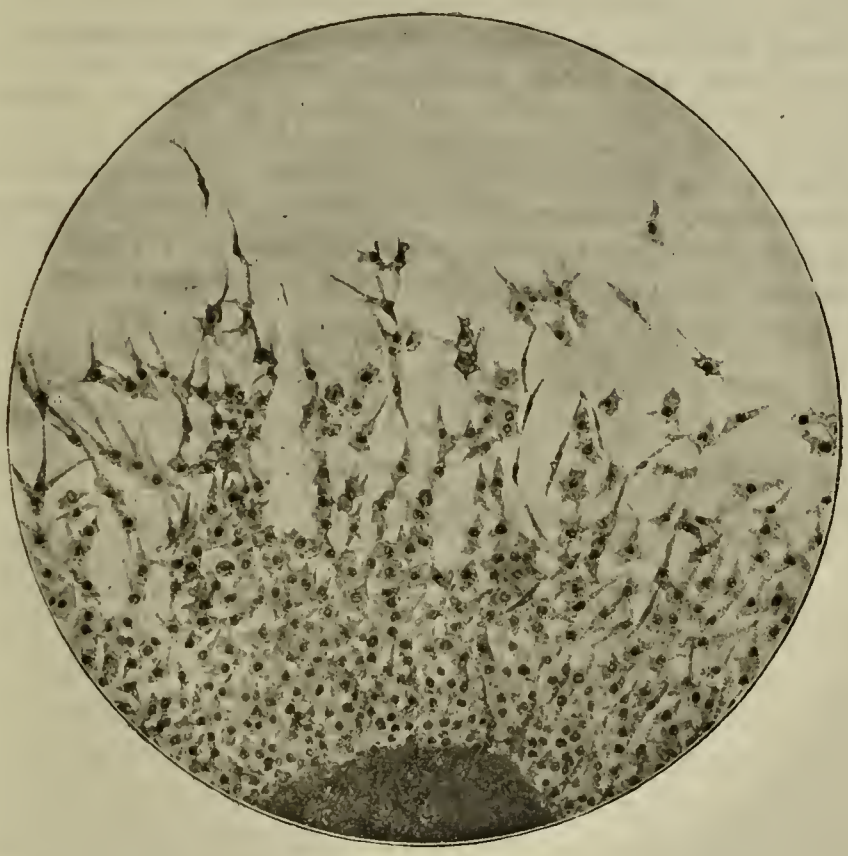

Fig. 112. — Colonia de tejido conectivo embrionario, obtenido por siembra en plasma de células conectivas de la rata (según Lambert).

De todas las células de tejido, son las epiteliales y las conjuntivas, normales ó patológicas, las más fácilmente aclimatables á medios extraorgánicos. Los elementos sembrados crecen y se multiplican á partir de la semilla, constituyendo trabéculas irradiantes que invaden progresivamente el terreno de cultivo. Es curioso notar que estas células expatriadas no han perdido enteramente sus hábitos sociales y su especial manera de crecer. Por ejemplo: mientras los corpúsculos conectivos se disponen en redes ó ristras, ó corren aislados á través del terreno, los elementos epiteliales se dilatan en láminas coherentes, que avanzan al modo de películas ó témpanos membra-

nosos. Unos y otros presentan movimientos amiboides y de progresión.

Pero el rasgo más sorprendente de estas colonias consiste en que, según hacen notar Loeb y Carrel, los elementos neoformados son virtualmente *inmortales*. Regresado á la fase *ascestral* del nomadismo, el corpúsculo cultivado recobra, con la vieja libertad del protozoario, el excelso privilegio de la perennidad. La muerte celular, declaran Harrison, J. Loeb y Carrel, constituye fenómeno contingente. Acaece por la falta de oxígeno y de renovación nutritiva. Por tanto, si recurriendo á medios artificiales, se procura á la unidad viviente el oxígeno y la ración alimenticia indispensables, y si además se mantiene la colonia limpia de materiales excrementicios (ácido carbónico y demás escorias de la vida nutritiva), no hay razón para que todo protoplasma con aptitud proliferativa no perdure indefinidamente. Perecerá acaso la célula, pero será catastróficamente, no de muerte natural.

CAPÍTULO VII

FUNCIONES CELULARES DE RELACIÓN

Movimiento browniano, amiboide, de corrientes protoplásmicas, vibrátil y de oscilación.

El movimiento espontáneo es uno de los atributos que mejor caracterizan la vida celular. Este movimiento, que se efectúa sin el concurso del sistema nervioso, puede ser observado en elementos completamente separados del cuerpo del vegetal ó del animal. Distínguense los movimientos en browniano, amiboide, de corrientes protoplasmáticas y de oscilación.

Movimiento browniano. — Sólo rindiendo culto á la costumbre nos ocupamos de él, pues no es en realidad un movimiento vital, por más que se sorprenda alguna vez en el interior de las células. Consiste en un temblor ú oscilación que todas las partículas de menos de una micra presentan cuando están suspendidas en un líquido de poca densidad. Manifiéstase el movimiento browniano en las granulaciones interiores de los leucocitos, cuando el agua ha penetrado en el espesor del protoplasma y diluído el jugo celular. Gracias á las investigaciones físicas de Perrin (1912), se sabe hoy que dicho movimiento traduce pasivamente la agitación molecular de los líquidos, al modo como la hoja seca, flotante en un remanso del río, traduce los remolinos del agua.

Movimiento amiboide. — Así llamado por haber sido primeramente observado en los amibos; se presenta especialmente en los leucocitos, corpúsculos conjuntivos y células embrionarias de los animales.

Para observar este curioso movimiento, deben preferirse los leucocitos de la linfa ó de la sangre de rana, porque pueden conservarse vivos en cámara húmeda y á la temperatura ordinaria, durante varias horas y aun varios días.

Mientras el leucocito circula por la sangre, su forma es esféri-

ca; pero en cuanto abandona los vasos, poniéndose en contacto con el aire ó con una superficie extraña cualquiera, excítase su irritabilidad y desenvuelve dos clases de movimientos: movimiento de deformación ó gesticulación; movimiento de traslación.

El *movimiento de gesticulación* consiste en la aparición, en torno del cuerpo celular, de expansiones pálidas de forma y tamaño diversos, que varían á cada instante. Esta deformación activa no puede seguirse con la vista á causa de su lentitud; pero si se interrumpe por algunos minutos la observación, se comprueba que el leucocito ha variado de forma, ora retrayendo expansiones, ora proyectando otras nuevas, ora estirando ó contrayendo en masa el cuerpo protoplásmico (fig. 113).

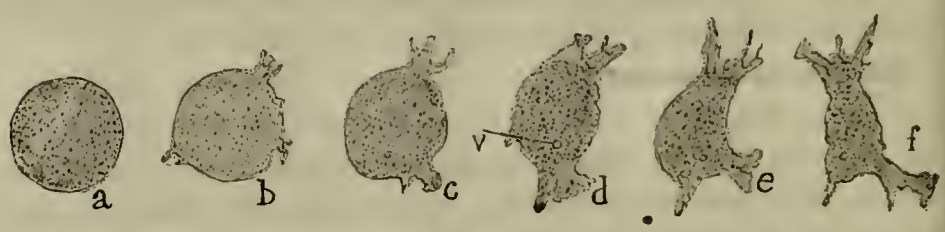

Fig. 113. — Cambio de forma de un leucocito de rana durante media hora de observación en cámara húmeda. — *a*, fase de esfericidad mientras el leucocito circula por los vasos; *b, c*, etc., figuras sucesivas que adquiere.

El *movimiento de traslación* se aprecia por el cambio de posición del leucocito, con referencia á un punto fijo, por ejemplo, á un glóbulo rojo. En media hora puede dicha célula recorrer medio campo del microscopio. En el espesor de los tejidos vivos, por ejemplo, á través de la córnea, los glóbulos blancos emigrados de los vasos atraviesan distancias de muchos milímetros, insinuándose por los resquicios y pasos más estrechos y difíciles.

Durante el movimiento amiboide, el núcleo se deforma, se estira y aun puede escindirse en dos ó más fragmentos (fig. 114).

Corrientes protoplásmicas. — En las células jóvenes de ciertas plantas (pelos de la *chelidonia, hortiga, tradescantia virginica,* etc.), el protoplasma, que está surcado por anchas vacuolas llenas de jugo celular, exhibe dos especies de movimientos:

el amiboide ó de deformación total, y el de circulación de partículas.

El *movimiento amiboide* es bastante activo y determina una metamorfosis continuada de la distribución de las masas y cordones protoplasmáticos. La deformación ocurrida es sólo intracelular, pues la membrana de celulosa, recia y sólida, no consiente ninguna variación de la forma exterior.

El movimiento de *rotación de partículas* es bastante rápido, pudiendo seguirse fácilmente al microscopio, sobre todo en los pelos estaminales de la *tradescantia virginica* (fig. 115, *c)*. Consiste este fenómeno curioso en la traslación á lo largo de los cordones protoplásmicos, de ciertos granitos brillantes, de menos

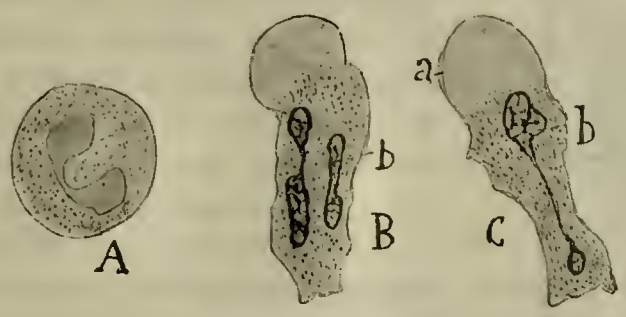

Fig. 114. — Deformacionés del núcleo durante los movimientos amiboides. —A, forma del núcleo en el leucocito en reposo; B y C, formas nucleares después de dos horas de variación amiboide y tal como aparecen bajo la acción del verde de metileno acetificado.

de una micra de diámetro, los cuales, marchando primeramente desde el núcleo hasta la periferia, vuelven luego, á lo largo de otros cordones, desde la periferia al núcleo. Ciertos cordones presentan dos corrientes paralelas, una de ida y otra de vuelta.

Esta rotación de partículas se presenta quizá en toda célula vegetal y acaso también en los corpúsculos animales, aunque en éstos sea á menudo imposible la observación. Créese que dichos granos no se mueven espontáneamente, sino que son empujados por corrientes invisibles de enquilema.

Movimiento vibrátil. — Los infusorios, llamados ciliados y flagelados, entre los animales mono-celulares y los corpúsculos epiteliales de ciertas mucosas, entre las células federadas de los animales superiores, exhiben este movimiento, que no se veri-

fica en el protoplasma entero, sino en ciertos finos apéndices implantados en una cara de la célula epitelial.

Para examinar cómodamente el movimiento vibrátil, debe elegirse la mucosa del esófago de la rana. Bajo una gota de agua, y en cámara húmeda porta-objetos, se deposita un trozo de epitelio que procurará ponerse doblado, á fin de que la superficie de la membrana constituya un borde libre. En este borde, bañado por el líquido y en contacto con corpúsculos sanguíneos y epiteliales sueltos, advertiremos unos finos apéndices, notablemente pálidos, agitados por un movimiento de oscilación tan rápido, que cuesta trabajo, en ocasiones, apreciar su origen y su forma. Transcurrida media ó una hora de observación, el movimiento adquiere más lentitud, y entonces cabe apreciar que cada pestaña pasa por dos estados: uno de contracción ó de flexión rápida, otro de relajación ó de rectificación relativamente lento.

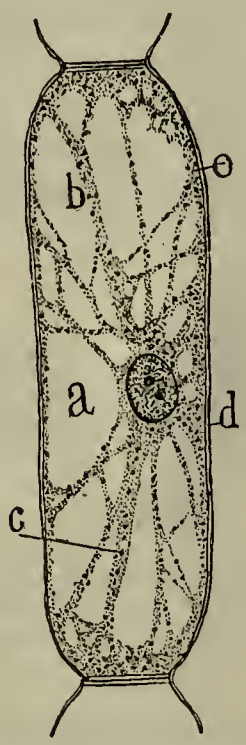

Fig. 115.— Célula de los pelos estaminales de la *Tradescantia virginica*. Examen en vivo. *a*, gran vacuola llena de jugo celular; *b*, cordones protoplásmicos; *c*, granos de inclusión; *d*, membrana de cubierta.

El movimiento de oscilación de la cola de los zoospermos es semejante al vibrátil, aunque algo más complicado. En vez de simple flexión lateral, el apéndice caudal es recorrido por una onda de contracción que presta al zoospermo el aspecto ondulante de una cuerda que se agita.

En la salamandra y tritón, los zoospermos presentan la cola guarnecida de una membrana, á manera de mesenterio, que se extiende desde la pieza intercalar hasta el extremo libre. Las ondas de contracción se inician cerca de la pieza intercalar, recorren rápidamente toda la longitud de dicha finísima membrana y hacen progresar el zoospermo, actuando algo así como las aletas de un pez.

CAPÍTULO VIII

FUNCIONES GENERATIVAS DE LAS CÉLULAS

División celular directa. División celular indirecta ó carioquinesis.

Las células que pueblan el organismo, del mismo modo que las que viven independientes, gozan del importante atributo de reproducirse, originando nuevos corpúsculos, cuyas propiedades anatomo-fisiológicas son enteramente idénticas á las del elemento progenitor.

El mecanismo más general de la producción de nuevas células es la división ó segmentación. Todas las variantes de neoformación celular pueden reducirse, en último análisis, á un acto de división, más ó menos complicada, del núcleo, protoplasma y membrana fundamental.

Nótese que, en el fenómeno celulo-genético, la célula madre desaparece como individuo, repartiéndose toda su substancia en dos corpúsculos hijos. No hay, pues, *célula madre* ni *célula hija* en el sentido estricto de los términos, sino fragmentación sucesiva de cierta cantidad de materia viva, que disminuiría hasta desaparecer á fuerza de dividirse, si la asimilación no restableciera prontamente el volumen originario.

Modalidades de la celulo-génesis. — La formación de las células se verifica de dos maneras: por *división* y por *conjugación*.

La *división* ó segmentación es el proceder ordinario empleado por la naturaleza para reponer las células destruídas en el ejercicio de las funciones orgánicas ó durante el desarrollo del embrión; mientras que la *conjugación* es un proceder generativo que podría calificarse de extraordinario, al cual recurre solamente la naturaleza para producir la primera célula del embrión (el óvulo fecundado). Este método generativo encierra un profundo sentido, desde el punto de vista de la transmisión de las cualidades adquiridas y de la conservación del tipo específico y funcional de los seres.

DIVISIÓN CELULAR

Comprende la segmentación celular dos modalidades: la *división directa ó amitósica,* y la *división indirecta, mitósica ó carioquinética.*

1.º — Segmentación directa ó amitosis

La segmentación directa es el acto de partición celular no precedido de metamorfosis estructurales del núcleo ni del protoplasma. Este proceso genético, que fué conocido mucho antes que el mitósico, pierde cada día importancia y generalidad, pues se ha averiguado que muchos de los elementos á quienes

Fig. 116. — Fenómeno de segmentación simple en los glóbulos blancos del *pleurodeles Watlii.* Examen en cámara húmeda. — *a,* núcleo; *b,* puente protoplásmico.

se atribuía dicho proceder divisorio, proliferan en realidad por carioquinesis. Autores hay que llegan á declarar que todos los hechos conocidos de división directa no representan otra cosa que fases mitósicas mal interpretadas. No parece, sin embargo, prudente llevar el escepticismo á tal extremo, á menos de negar, sin motivo alguno, la legitimidad y realidad de las observaciones de división amitósica recaídas en leucocitos y células conectivas, y publicadas por Ranvier, Arnold, Cajal, Flemming y otros.

Por nuestra parte, hace ya cerca de veintiséis años que pudimos observar el fenómeno de la segmentación directa de los leucocitos de la sangre de un urodelo (el *pleurodeles Watlii).* Las fases

observadas concuerdan con las anunciadas por Ranvier y Arnold. La división se inicia por estrangulación del núcleo, que no tarda en segmentarse en dos pedazos, generalmente de forma desigual; los núcleos hijos se colocan en un extremo del protoplasma, mientras que la porción intermedia de éste se estira y adelgaza extraordinariamente, concluyendo por romperse. A veces el proceso aborta; el puente de protoplasma que estuvo á pique de escindirse, se acorta y engruesa; los núcleos se aproximan y la célula se reintegra en su primitiva forma (fig. 116) (1).

La división del núcleo puede no ser seguida de partición del protoplasma. La partición nuclear puede repetirse tres, cuatro ó más veces, resultando así un corpúsculo generalmente voluminoso, que encierra en su protoplasma un número variable de núcleos. Por tal mecanismo se producen las células multinucleadas gigantes del tejido inflamatorio (células gigantes del tubérculo, del leproma, etc.) y los osteoclastos de la médula ósea.

Existen células, tales como ciertos leucocitos de gran talla y las mieloplaxias de la médula ósea, cuyos núcleos parecen ofrecer en estado permanente ó bastante duradero las fases de transición entre la mononuclearidad y la multinuclearidad. El núcleo de estas células exhibe á menudo forma de judía ó de bizcocho, con puente intermediario más ó menos delgado; en otros casos, afecta la forma de una cadena de lobulillos unidos por finas estrangulaciones.

Cuando la división directa ó indirecta sobreviene en células rodeadas de espesa cubierta (cápsula de secreción), los corpúsculos hijos no pueden separarse, porque la membrana envolvente, que no participa del fenómeno divisorio, lo impide. Esta variedad de proliferación se llama *segmentación endógena*. Si la división ocurre en células que sólo poseen delgada membrana fundamental, los elementos engendrados quedan en libertad, pudiendo separarse inmediatamente *(fisiparidad simple)*. Finalmente, cuando la segmentación del núcleo y protoplasma se efectúa de un modo desigual, de manera que sólo una pequeña parte de estos órganos se aprovecha para engendrar uno ó va-

(1) Véase nuestro *Manual de Histología y Técnica*, pág. 391, 1.ª y 2.ª edición.

rios elementos hijos, el acto generativo toma el nombre de *gemmación*. Ejemplos de gemmación nos ofrecen ciertos infusorios *(Talasicolas)*, según Hertwig; el óvulo joven de los mamíferos (Schafer), los óvulos de la ascidia (Fol). En todos estos seres la yema nuclear cruza, rodeada de una pequeña cantidad de protoplasma individualizado, el cuerpo celular, y se instala por lo común en la periferia bajo la membrana de cubierta.

2 °—Carioquinesis ó segmentación indirecta

La *mitosis* ó *carioquinesis*, descubierta por Schneider y perfectamente estudiada por Flemming, es el método de división más general é importante, y se caracteriza por la circunstancia de que el núcleo, antes de segmentarse, experimenta una serie de curiosísimas metamorfosis de estructura, así como de fenómenos de movimiento.

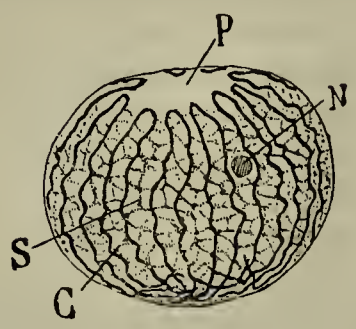

Fig. 117. – Esquema del núcleo según Rabl. — C, filamentos de cromatina ó primarios; S, filamentos de linina ó secundarios; N, nucleolo.

Las fases de este proceso pueden observarse en toda clase de células, tanto animales como vegetales; pero son preferibles, por el gran tamaño de sus núcleos, los elementos de las larvas de urodelo, por ejemplo: las de salamandra y tritón, donde Flemming y Rabl, y después muchísimos autores, han hecho sus estudios sobre la carioquinesis.

La *mitosis* ó *citodiéresis* no representa un proceso único, de plan absolutamente uniforme. Existen diversos tipos de generación indirecta, difíciles de clasificar, porque se enlazan mediante matices insensibles. Sin embargo, hay una modalidad mitósica muy extendida en los animales. El mejor objeto de estudio de esta variedad, según hizo ya notar Flemming, está constituído por las células sexuales de la salamandra: los *espermatocitos* y los *ovocitos*. A este ejemplo de mitosis típica referiremos de preferencia la descripción siguiente, cuyas figuras han sido tomadas de Flemming y Prenant.

Las fases del proceso, á partir del estadio de inercia ó de descanso, se clasifican en progresivas y regresivas.

Son *progresivos* aquellos cambios estructurales que median entre el descanso y la fase de metaquinesis ó de estrella madre; son *regresivos* los que conducen, por una suerte de retroceso, desde la metaquinesis ó cima del fenómeno, al estado de descanso de las células hijas. El siguiente cuadro muestra el orden y nomenclatura de las fases, según la mayoría de los autores:

FASES PROGRESIVAS.	*Profase.*	Fase de descanso.
		Fase de reticulación gruesa.
		Fase de ovillo.
	Metafase.	Fase de segmentación transversal.
		Fase de la estrella madre.
		Fase de segmentación longitudinal.
FASES REGRESIVAS..	*Anafase..*	Fase de placa ecuatorial.
		Fase de las estrellas hijas.
	Telefase..	Fase de ovillo hijo.
		Fase de reticulación.
		Fase de descanso.

A) **Profase.** — 1.ª **Fase de descanso.** — Así se llama el estado de la célula durante el intervalo de dos segmentaciones (figuras 118, 1 y 2, y 120). En los últimos días de este período de descanso, la red cromática del núcleo se hace más rica y la talla nuclear aumenta sensiblemente. El *idiozoma* y los *centriolos* son aparentes (fig. 120, *c)*. Ulteriormente el retículo se hace de cada vez más laxo y destacado, por espesamiento sucesivo de los hilos cromáticos y la progresiva atrofia de los de linina. Créase así la fase llamada de *retículo grueso,* preparatoria de la organización del ovillo.

2.ª **Fase glomerular ó del ovillo.**—Cuando va á comenzar el proceso, la red nuclear aparece más perceptible, distinguiéndose claramente dos clases de trabéculos: *primarios* ó gruesos, formados principalmente de cromatina, y *secundarios* ó finos, donde domina la linina. Rabl ha demostrado y Flemming ha aceptado después (fig. 117), que los filamentos primarios, llamados también *cromosomas,* no están dispuestos al azar, sino que forman asas ú horquillas orientadas casi en el mismo sentido, y cu-

yos codos están vueltos á un lado. El paraje del núcleo donde convergen los ángulos de las horquillas presenta un espacio vacío de filamentos, que se ha llamado *campo polar*. En el extremo opuesto *(campo antípoda ó contrapolo)* no existe vacío, acumulándose y entrecruzándose los cabos libres de los cromosomas.

Al final de esta fase, todos los filamentos finos ó secundarios desaparecen, así como el nucleolo, quedando exclusivamente los

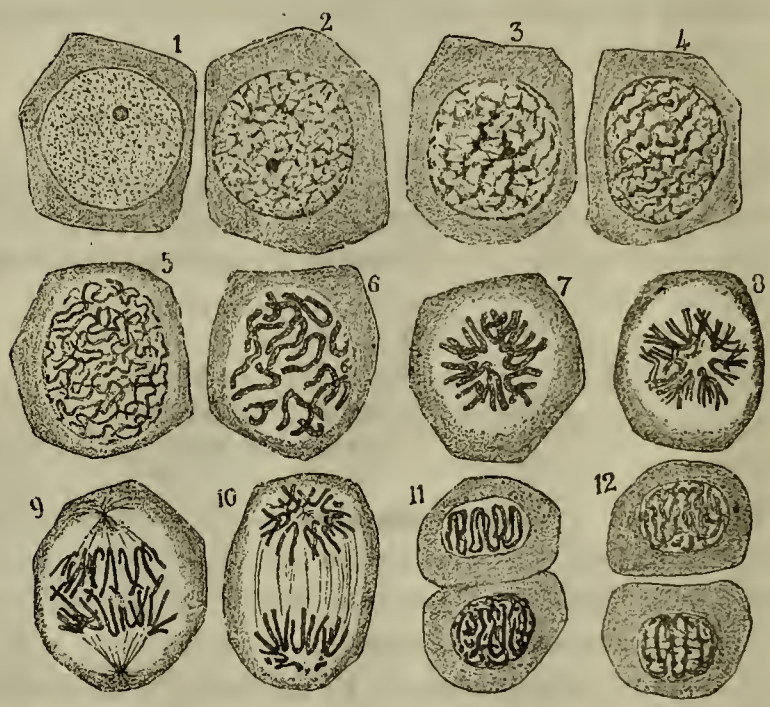

Fig. 118. — Células epiteliales en vías de división carioquinética de la piel de la larva del Pleurodeles Watlii. — 1, descanso; 2, reticulación fina; 3, reticulación gruesa; 4, reabsorción del nucleolo y fase glomerular; 5, ovillo laxo; 6, horquillas; 7, estrella madre; 8, división longitudinal (vista polar); 9, metakinesis; 10, estrella hija; 11, ovillo hijo; 12, segmentación del protoplasma.

primarios, que se perciben ahora con gran corrección, y que atraen vivamente las materias colorantes de la nucleína. En cuanto á la materia del nucleolo, pasaría á formar parte de los cromosomas, y acaso del huso, como asegura Czermak (figs. 118, 5, y 121). Ulteriormente, el filamento cromático se espesa al par que se acorta, con lo que el espacio claro interfibrilar se ensancha. A este fenómeno de enreciamiento del filamento con desaparición de la mayor parte de sus recodos, que acaece en los

últimos momentos de la fase del ovillo, se ha dado el nombre de *estadio del ovillo denso*. En esta fase aumenta también la colorabilidad de la nucleína y crece el líquido nuclear.

En muchas células, y singularmente en los espermatocitos de la salamandra, al final de la fase de ovillo se opera ya la segmentación longitudinal del filamento cromático, que va seguida de la fragmentación transversal en horquillas ó cromosomas (fig. 123).

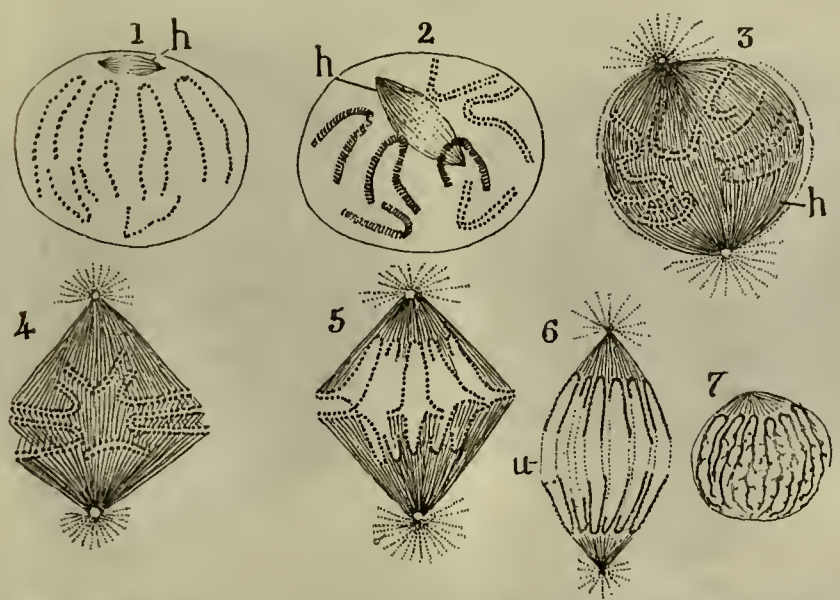

Fig. 119. — Fases mitósicas según Rabl.—1, fase de ovillo; 2, formación del huso y atracción de las horquillas; 3 y 4, momentos distintos de la fase de estrella madre; 5, placa ecuatorial; 6, estrellas hijas; 7, núcleo hijo donde comienzan á brotar los hilos secundarios; *h*, huso acromático; *u*, filamentos de unión.

Metafase. — **Fase de segmentación transversal del filamento continuo.** — Al final del estadio del ovillo ó espirema, el filamento cromático se divide en el número de cromosomas característico de la especie celular. Estos cromosomas se enrecian y doblan progresivamente, convirtiéndose en horquillas. Al mismo tiempo se hace visible la esfera atractiva *(idiozoma* de Meves) y dos centriolos ó centrosomas, al principio muy próximos, pero que se van apartando sucesivamente. El aster ó radiación protoplásmica que rodeaba á la esfera atractiva, antes única, se duplica (fig. 122, *h)*, apareciendo entre los dos centro-

somas un fino pincel de hebras (figs. 122, y 124) que ha recibido el nombre de *centrodesmosis*. Esta banda constituirá en las fases sucesivas el huso central, órgano importante del proceso mitósico.

Fase de estrella madre ó de corona. — Esta fase se caracteriza por el arreglo, en forma de estrella, de los hilos ú horquillas cromáticas (llamadas también *cariosomas, cromosomas),* y por el incremento y dislocación del *huso acromático* (figs. 118, 7, y 124, B).

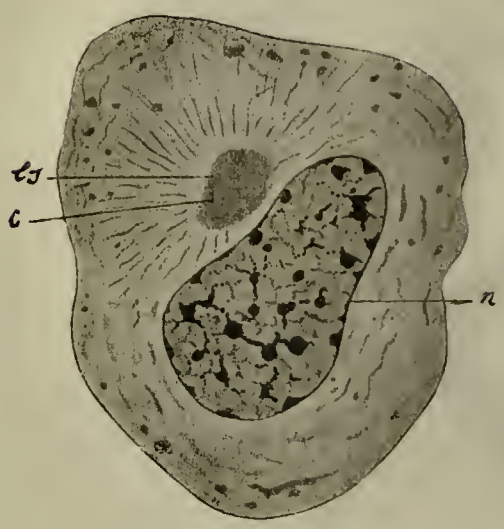

Fig. 120. — Espermatogonia de *salamandra maculosa* en fase de descanso. — *n,* núcleo; *es,* idiozoma ó esfera atractiva; *c,* centrosomas dispuestos en pareja (Flemming).

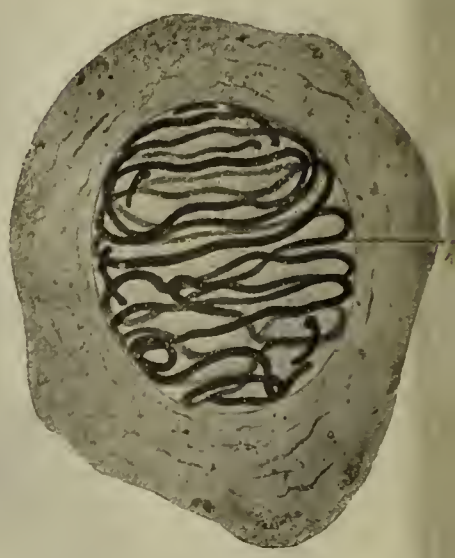

Fig. 121. — Espermatogonia de la salamandra en fase de espirema ú ovillo. La cromatina *(p)* forma un filamento continuo (Flemming).

El *huso* nacido de la *centrodesmosis* es un aparato filamentoso, especie de fascículo en forma de tonel, con polos puntiagudos, en los cuales resalta un grano brillante, que no es otra cosa que el centriolo ó centrosoma. Los hilos del huso son de extraordinaria delicadeza, y corren curvilíneamente de uno á otro polo; distínguense de las asas cromáticas no sólo por su forma, sino por su incolorabilidad en el carmín. Según Rabl y todos los modernos autores, el huso aparece primeramente junto á la membrana nuclear, en el medio del campo polar; luego adquiere un gran volumen, y desaparecida la cubierta, se retira á la

región central del núcleo, para dirigir los movimientos de los cromosomas (figs. 119 y 122). Del otro lado de los polos, el retículo protoplásmico oriéntase también, construyendo dos semiconos filamentosos cuyos radios convergen en los centrosomas *(conos antípodas)* (fig. 124, B).

Mientras tanto, las asas cromáticas, como atraídas por fuerza misteriosa, vuelven sus codos al centro del núcleo, disponiéndose en torno de la región más ancha del huso y constituyendo una

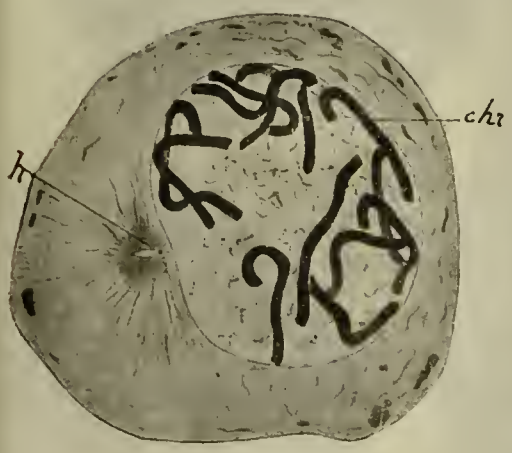

Fig. 122. — El espirema se ha dividido transversalmente en trozos ó cromosomas *(chr)*. El huso se inicia por segmentación de los centrosomas y aparición de un pincel intercalar pequeñísimo *(h)* (Flemming).

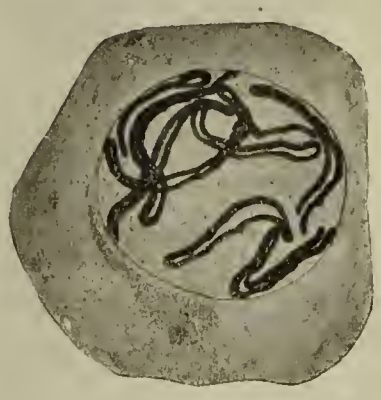

Fig. 123. — Espermatocito de primer orden de la salamandra. — Hendimiento longitudinal de los cromosomas, que aparecen adheridos por sus cabos (Flemming).

estrella cuyo plano es perpendicular al eje de éste. Este plano llámase sección ó *plano ecuatorial*, y á su nivel ocurrirá más adelante la segmentación del núcleo y protoplasma. El plano ecuatorial ó plano de sección de la célula es siempre perpendicular al eje mayor del protoplasma (Sachs, Hertwig).

Antes de la formación de la estrella, la membrana nuclear se hace cada vez más pálida, hasta que desaparece por completo. El punto en que se inicia la reabsorción es aquel que mira al centrosoma en la fase de núcleo en descanso. En adelante, las figuras nucleares se mostrarán completamente libres en el interior del protoplasma (fig. 124).

Fase de segmentación longitudinal. — Como ha descubierto Flemming, lo común es que durante la fase de estrella *madre*,

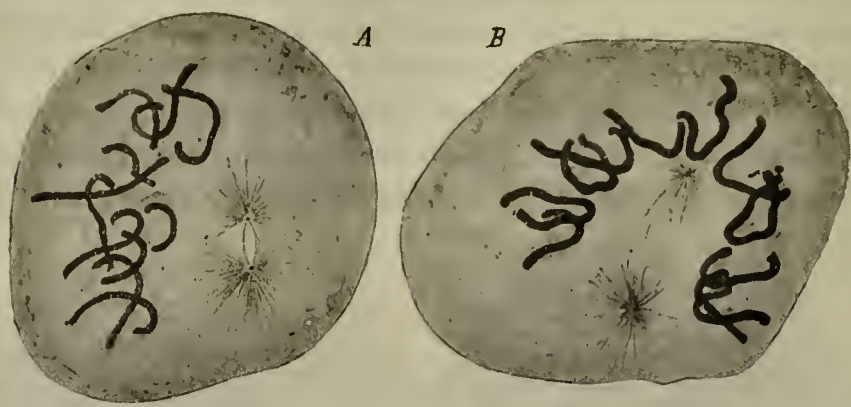

Fig. 124. — La membrana nuclear ha desaparecido y los cromosomas dispuestos en horquillas quedan libres. — En A, el huso acromático es pequeño y apenas influye sobre la dirección de los cromosomas, mientras que en B, el huso es grande y los cromosomas se orientan, volviendo los ángulos hacia él (Flemming).

las horquillas se escindan á lo largo, comenzando el hendimiento por los extremos libres y acabándose por los codos. Este im-

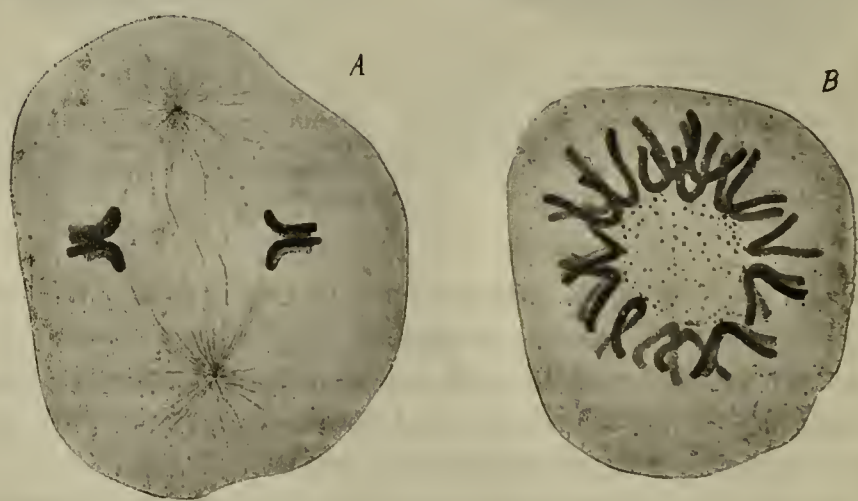

Fig. 125. — Placa ecuatorial. — En A, aparece esta fase de un modo esquemático, no habiéndose dibujado sino cuatro cromosomas. En B, se presenta el huso acromático en punta y aparece la disposición radiada de los cromosomas (Flemming).

portante fenómeno de partición longitudinal tiene por consecuencia la duplicación de las asas cromáticas, y explica por qué

la estrella madre y las estrellas hijas encierran exactamente el mismo número de filamentos de nucleína (fig. 125, B). Pero según dejamos apuntado, y aparece en las figuras 119, II y 123, en ciertas células la segmentación longitudinal se anticipa, presentándose ya en el estado de glomérulo. Cuando esto ocurre es frecuente ver que cada pareja de horquillas ó cromosomas de la estrella madre se halla todavía unida por sus cabos (fig. 123). A esta disposición de los cromosomas durante la fase de estrella madre se llama *heterotípica* para distinguirla de la *hemotípica* ó común.

Fig. 126.—Una figura heterotípica (Flemming). — Los cromosomas no se dividen completamente y permanecen unidos por sus cabos, aun en la fase de estrella hija.

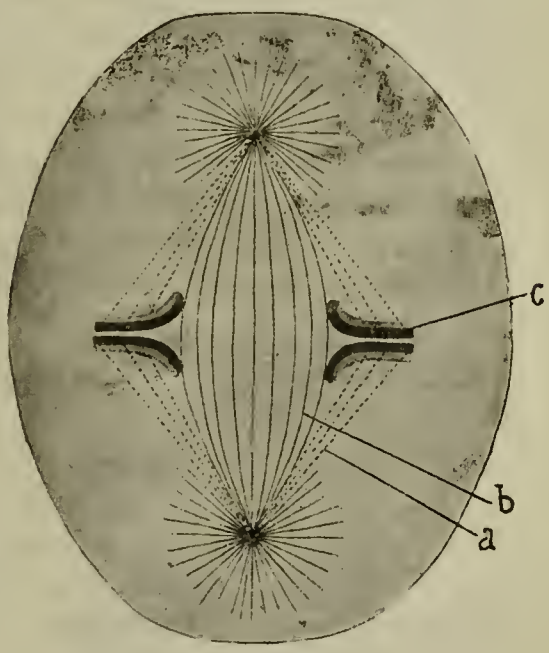

Fig. 127. — Metafase. Figura esquemática.— Corpúsculos polares con sus radiaciones asterianas *(b)*; *a*, fibras superficiales del huso; *c*, cromosomas (Flemming).

Las asas de la fase de estrella muestran, con más ó menos claridad, una disposición arrosariada (Pfitzner, Balbiani, Rabl, Heidenhain, etc.). Esto depende de que cada cromosoma consta en realidad de un número considerable de esférulas de cromatina, ligadas entre sí por puentes de linina. En el acto de la partición longitudinal, cada cromiola ó esfera constitutiva de las asas se dividiría, produciéndose dos sartas paralelas de granitos cromáticos (fig. 119, II, y fig. 118, VIII).

Anafase.—**Placa ecuatorial ó metakinesis.**—Luego de duplicadas las horquillas, éstas comienzan á separarse, iniciándose el apartamiento por los codos y siguiendo hasta los extremos (figura 126 y fig. 127, *c)*. Desconócese el mecanismo de esta emigración de las horquillas. Ciertos autores imaginan que, en el momento de la segmentación longitudinal, divídese ecuatorialmente el huso, cuyos filamentos se adherirían á los codos de las horquillas, tirando de ellos hacia las regiones polares. Como Flemming ha observado, en ciertos casos excepcionales la doble serie de horquillas mantiénese cierto tiempo adherida por sus cabos en la región ecuatorial (fig. 126).

No todos los filamentos del huso colaboran en el proceso. Bajo este respecto, es preciso distinguir el haz central que va de polo á polo, sin tocar á los cromosomas (fig. 127, *b)* y las *fibras marginales ó corticales* (fig. 127, *a)* que marchan desde los polos á los cromosomas, sosteniéndolos en su posición y tirando de ellos hacia los centriolos.

Fase de estrellas hijas. — Las asas acromáticas se corren hacia los polos, constituyendo una doble estrella que sólo puede apreciarse bien en las vistas polares. Los filamentos del huso han desaparecido en gran parte en la zona ecuatorial, percibiéndoselos con claridad en el espacio que media entre los codos de las asas y el granito polar (fig. 128, A y B).

Telefase.—**Fase del ovillo hijo.**—Los granos polares y el huso desaparecen, mientras que una fina membrana surge en torno de las figuras cromáticas hijas. Al iniciarse esta fase, las horquillas conservan su orientación y su independencia; pero no tardan en brotar del contorno de las asas filamentos pálidos, ramificados, que enlazan entre sí los hilos cromáticos, dando lugar á una figura reticulada, fiel reproducción de la fase del núcleo en descanso. Al mismo tiempo el núcleo toma la forma de herradura, y en su concavidad se alberga el idiozoma (esfera atractiva) y el centrosoma (fig. 128, C). Al acabar esta fase, ó algo antes, se escinde ecuatorialmente el protoplasma celular, y la sección comienza en la periferia para terminarse en el centro.

Al avanzar este surco protoplasmático, llega un momento en que choca con el huso, que parece resistir apretándose y con-

virtiéndose en un delgado manojo de finísimos hilos *(haz fusorial)*, manojo que se ha comparado á una gabilla de espigas

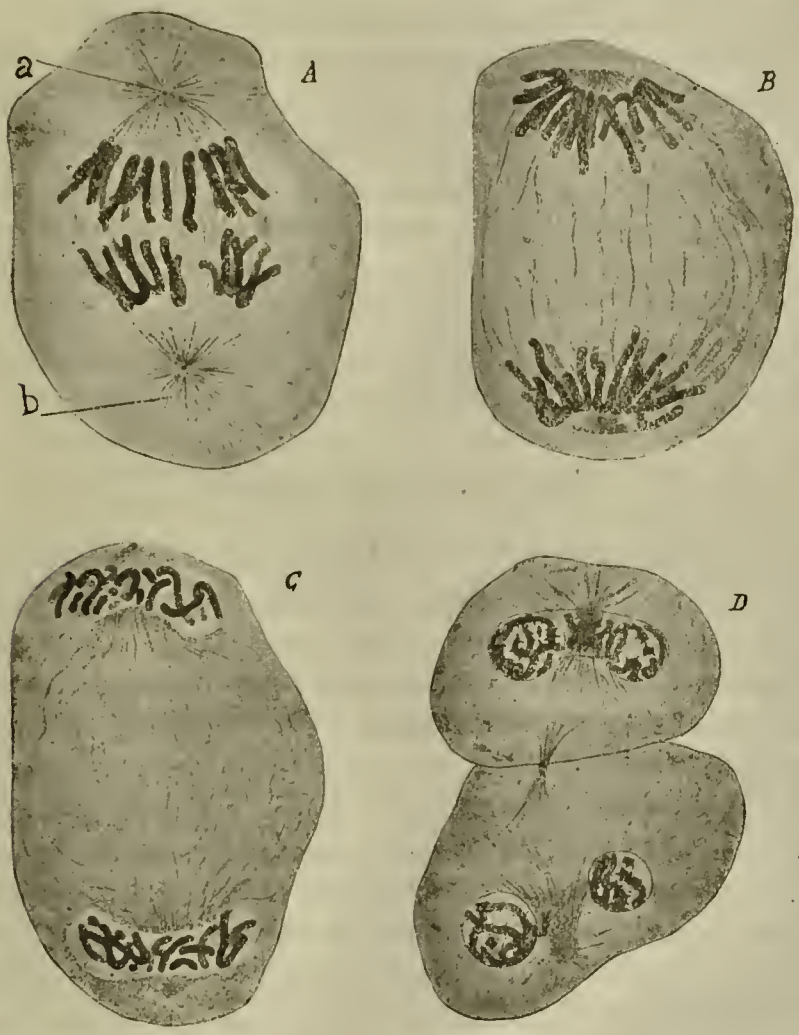

Fig. 128. — Espermatogonia de la salamandra. Anafase y telefase.—A, fase de estrellas hijas; los cromosomas se hallan cerca del ecuador; B, la misma fase, pero los cromosomas se acercan á los polos, donde generan una corona. El huso comienza á disgregarse; C, fase de ovillo hijo; la membrana nuclear aparece, tomando el núcleo forma arriñonada; D, comienza la segmentación del protoplasma, fórmase el cuerpo intermediario, y el centrosoma y porción polar del aster alójanse en una concavidad del núcleo hijo, iniciándose la fase de descanso (Flemming).

sujetas por un lazo. Esta especie de anillo *(cuerpo intermediario* de Flemming), que corresponde al espacio intercelular en vías de formación, resulta de la aparición en el ecuador del huso

y, en torno de cada fibra, de un grano coloreable por los reactivos, el cual se fusiona con los vecinos (fig. 128, D). Poco tiempo después, el manojo se rompe y el *cuerpo intermediario* se reabsorbe, así como los restos del haz central del huso.

Por este mismo tiempo prodúcense los filamentos secundarios por ramificación de los cromosomas, y el nucleolo reaparece (fig. 128, XII, y fig. 128, D). No obstante la confusión que trae consigo la formación del retículo cromático, la cifra de cromosomas ó filamentos primarios discernibles en el núcleo hijo es la misma que existía en la célula madre, número que resulta constante en la mayor parte de los elementos adultos.

Según Flemming, los núcleos de las células humanas contendrían próximamente veinticuatro parejas de cromosomas.

CARIOQUINESIS PLURIPOLAR

En las células gigantes ó mieloplaxias de la célula ósea (Denys), las células de los tejidos patológicos (Arnold, Hansemann, Cornil, Schottländer, Denys, Cajal, etc.), las células gigantes del hígado embrionario (Kostanecki), en los óvulos del *strongylocentrotus* tratados por la quinina (O. Hertwig), etc., se advierte que el reparto de las asas cromáticas en la fase de ovillo, en vez de conducir á la formación de dos estrellas hijas, puede abocar á la construcción de tres, cuatro ó más de estas figuras, cada una de las cuales se transformará en un núcleo en descanso.

Este fenómeno se debe probablemente á la multiplicación excesiva de las esferas atractivas, seguida de la construcción de dos, tres ó cuatro husos acromáticos, en torno de cuyos ecuadores se reparten los cromosomas. En la fase de estrella madre, los cromosomas forman una figura complicada, pues se continúan las que rodean un huso con las que dependen de los otros, y al ocurrir la escisión longitudinal de los cromosomas, engéndranse cuatro, seis ó más estrellas hijas, es decir, un número doble del de los husos acromáticos.

Relación entre la mitosis y las esferas atractivas. — Hasta ahora no hemos estudiado la esfera atractiva en sus relaciones con el acto mitósico; lo haremos más adelante al tratar de la conjugación. Por aho-

ra, importa notar que todo acto de mitosis va precedido de la división del centrosoma y que, consecutivamente á esta división, los nuevos centros, atrayendo los filamentos del protoplasma, crean el huso acromático cuando el centriolo es doble (diplosomas).

Suerte del nucleolo durante la mitosis. — Hemos visto, al tratar de la generación directa, que el nucleolo, como Flemming demostró, se divide para formar dos nucleolos destinados á las células hijas. Esta división, estimada por muchos como un proceso activo, la consideran otros como un fenómeno pasivo. Según Heidenhain, el nucleolo carece de organización y es resultado de secreciones nucleares.

En la mitosis, el nucleolo desaparece por disolución en el jugo nuclear, generalmente antes que la membrana del núcleo se reabsorba. Sin embargo, cuando es muy grande, puede persistir durante toda la mitosis, habitando entonces en el protoplasma, por disolución de la membrana. Estos nucleolos persistentes, vistos por Haeker, Obst, Kostanecki, en diversas células de invertebrados (ovocitos), han tomado el nombre de *metanucleolos.* En las células de los tejidos no aparecen nunca. En fin, durante la mitosis de la *euglena,* el nucleolo toma parte en la división, pasando cada fragmento nucleolar á los núcleos hijos, según ha demostrado Kenten.

Este vario comportamiento del nucleolo no deja de constituir serio obstáculo á la averiguación de su significación fisiológica. Ni es de extrañar que sobre tal punto los pareceres de los histólogos sean contradictorios.

Así, mientras para Haeker el nucleolo constituiría un material de reserva, que sería absorbido por los cromosomas de la célula madre para cederlo después al plasma de los núcleos hijos y regenerar nuevamente dicho corpúsculo, Strasburger opina que la materia nucleolar serviría á constituir el aster y el huso acromático, opinión de que no dista mucho Heidenhain, cuando supone que el nucleolo, al disolverse, activa la asimilación del huso, aunque sin confundirse con él.

Comportamiento de las mitocondrias. — De las investigaciones de estos últimos años, resulta muy verosímil que en todo acto mitósico ó amitósico las mitocondrias se dividen, manteniéndose así en las células hijas igual ó parecida cifra que en la célula madre. En este punto, la ciencia registra todavía pocas observaciones precisas. Una de ellas, y por cierto muy interesante é instructiva, es la hecha por Meves en los espermatocitos de un molusco (*paludina vivipara*). Las diversas fases de este proceso aparecen en la figura 129, donde se advierte que las mitocondrias, primero dispuestas en gránulos en torno de la esfera atractiva *(a, b),* forman después cadenas y anillos que, organizados durante la metaquinesis en una especie de estrella

madre, complementaria de la cromática, divídense transversalmente en los estadios ulteriores *(g, h)* para restablecer nuevamente un grupo de anillos pericentrosomáticos. Las ulteriores fases *(n, o, p, x)*

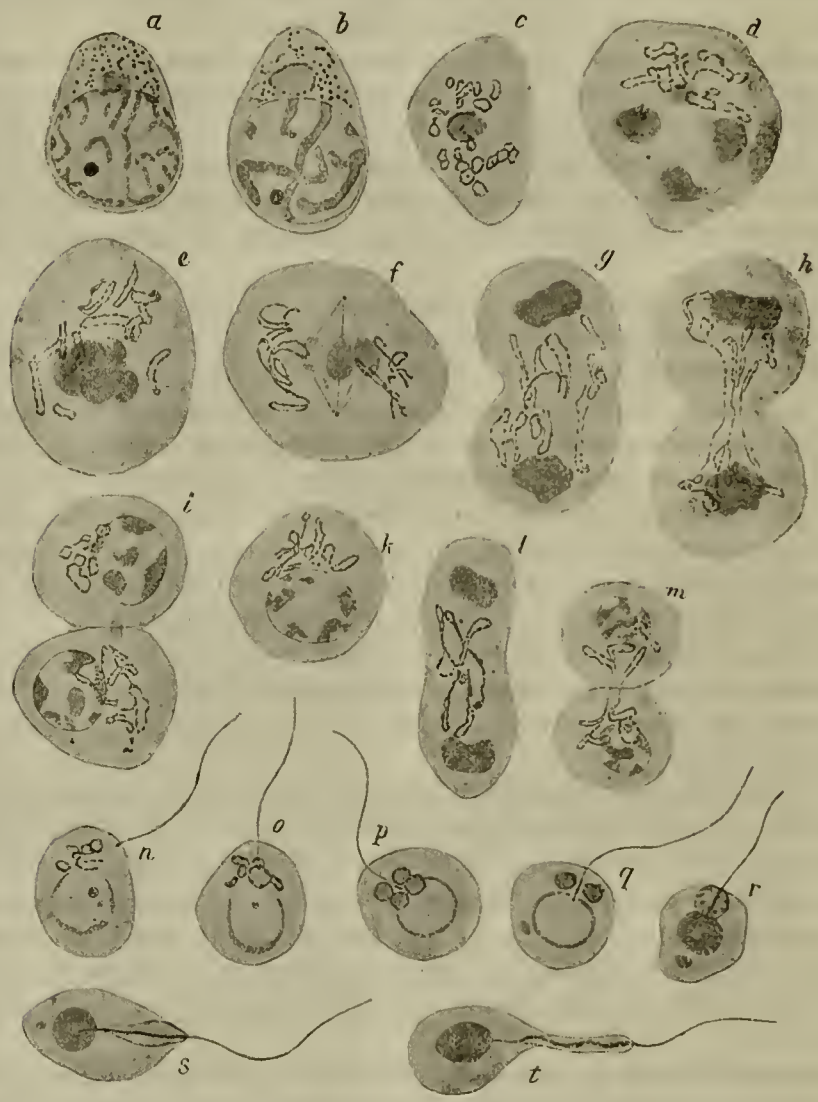

Fig. 129. – Fases divisorias de las mitocondrias durante la evolución del espermatocito de la *paludina vivípara*. – *a, b,* mitocondrias dispuestas en gránulos en torno del *idiozoma; c, d,* su transformación en anillos; *e, f,* disposición en collares que se colocan por fuera de la figura cromática; *g, h, i,* fases de la repartición de las mitocondrias en las células hijas, etc. (Según Meves).

enseñan cómo las mitocondrias, antes dispersas en el protoplasma, se concretan en una especie de forro, en torno del cuerpo del zoospermo. De este último fenómeno trataremos más adelante, con ocasión de la espermatogenesis.

Suerte del aparato de Golgi.—Las investigaciones de Perroncito (1911), Deineka (1912) y Fañanás (1913), han demostrado que, durante la mitosis, el retículo de Golgi se fragmenta, reduciéndose á gránulos sueltos y repartiéndose éstos en las células hijas para reconstruir, en virtud de un fenómeno de crecimiento y diferenciación, el aparato reticular.

Esquema de Rabl sobre la segmentación mitósica. — La influencia de la división de las esferas atractivas sobre la formación de las figuras cromáticas es difícil de comprender, así como la construcción del huso, que tanta influencia parece tener en la posición y movimientos de las asas cromáticas. Para dar alguna idea de este mecanismo, Rabl ha imaginado el adjunto esquema del núcleo en descanso (fig. 130). Los hilos primarios ó gruesos del armazón nuclear aparecen formando horquillas, cuyos codos miran á la zona polar, en la cual y sobre la membrana, descansa la esfera atractiva. Los ángulos de las horquillas únense, mediante finos hilos, al grano polar ó esfera atractiva, que recibe por el opuesto lado la inserción del retículo protoplásmico. Con estos antecedentes, veamos cómo se realiza el fenómeno quinético:

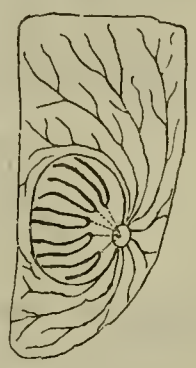

Fig 130.—Esquema de Rabl, que muestra la estructura hipotética de la célula y núcleo en descanso.

Bajo la provocación de un estímulo exterior, el retículo protoplásmico reacciona, contrayéndose y tirando en dirección opuesta de la esfera atractiva; ésta se duplica, y acto seguido se dividen á lo largo los hilos acromáticos que la enlazan á las horquillas. En tal situación, las esferas atractivas se han apartado mucho, colocándose casi en puntos opuestos del núcleo, y los dos haces producidos por la división de los hilos acromáticos se han convertido en el huso ó fascículo de fibras pálidas, á cuyo alrededor se instalará la estrella madre. Por último, los ángulos de las asas, de los que tiran los dos medios husos recién formados, acaban por escindirse también longitudinalmente, de donde la formación de la placa ecuatorial, es trellas hijas, etc.

No todos los autores están de acuerdo con el esquema de Rabl. Flemming, sobre todo, lo combate con argumentos de fuerza, entre los cuales el más importante nos parece ser la frecuente producción de la escisión longitudinal en estadio de ovillo, es decir, antes de que los medios husos acromáticos aparezcan y puedan tirar de los cromosomas. También se duda por algunos de la contractilidad de los filamentos del huso. Así Reinke se inclina á atribuir la dislocación de los cromosomas en las distintas figuras mitósicas á los movimientos libres, amiboides, de los mismos. Ni faltan sabios que ven en el huso

acromático y aster líneas de fuerzas á partir de los centrosomas, es decir, efectos dinámicos semejantes á los producidos por los electroimanes sobre las limaduras de hierro (Ziegler) ó por los campos magnéticos sobre finos cristales suspendidos en líquidos (Gallardo).

CONJUGACIÓN

La formación celular por conjugación ocurre solamente en la producción de la primera célula del embrión, tanto de los animales como de las plantas.

La célula sexual femenina *(ovocito)* pasa antes de su madurez por varias fases, de que trataremos más adelante. Por ahora, haremos notar que el óvulo procede de una célula germinal es-

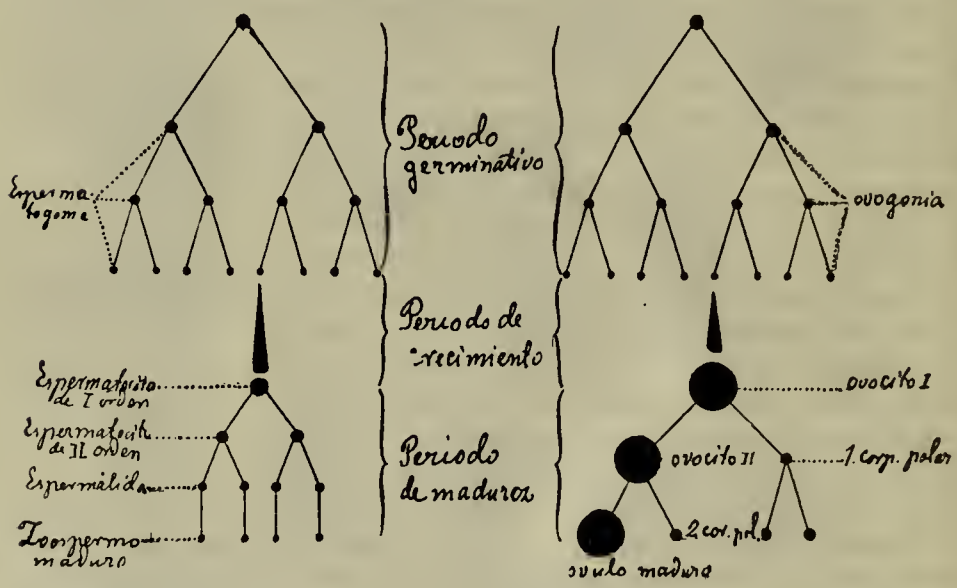

Fig. 131. — Esquema de Boveri que presenta en orden cronológico y paralelamente, la genealogía del zoospermo y del óvulo. La figura de la izquierda muestra las divisiones de la célula sexual masculina, y las de la derecha las de la célula femenina.

pecífica del ovario, la cual se segmenta para formar dos células hijas *(ovogonia)*, á su vez divididas para generar sucesivamente cuatro y por fin ocho elementos, los cuales, creciendo notablemente, constituyen los *ovocitos* de primer orden. Este período de proliferación inicial de las células sexuales se llama *período germinativo* (fig. 131).

Lo mismo ocurre con la célula madre de zoospermos. Después de dos proliferaciones consecutivas, resultan ocho corpúsculos hijos ó *espermatogonias,* las cuales crecen en diámetro, aunque no tanto como las ovogonias, y constituyen el espermatocito de primer orden (fig. 131, á la derecha).

Arribados á esta fase, espermatocito y ovocito, hállanse capacitados para el fenómeno de la maturación. En la figura 131 presentamos el esquema de Boveri, en que aparecen dichas proliferaciones iniciales de las células sexuadas. En ella puede fácilmente comprobarse el paralelismo evolutivo del óvulo y el zoospermo.

En la conjugación del ovocito y espermatocito hay que distinguir tres actos sucesivos: 1.°, reducción cromática ó expulsión de una parte de los filamentos del núcleo del zoospermo y del óvulo; 2.°, penetración del zoospermo en el protoplasma del óvulo y construcción de una figura cromática conjugada; 3.°, carioquinesis subsiguiente.

Proceso de reducción. — Llamado también *maturación* de las células sexuales, consiste esencialmente en la expulsión, á beneficio de dos actos mitósicos simplificados, de una parte de la cromatina nuclear, con el fin quizá de evitar la duplicación de esta materia después de la reunión, en una unidad nuclear, de los dos núcleos ovular y zoospérmico. Este curioso proceso, cuyas fases han podido seguirse bien en los equinodermos *(asteria glacialis),* en los vermes *(ascaris megalocephala)* y en algunos vertebrados (mixina, ratón, cobaya, etc.), es el obligado precedente de la fecundación y recae tanto en el zoospermo como en el óvulo.

Existen todavía puntos dudosos en lo concerniente á las fases y mecanismo de la reducción; nosotros, á fin de aparecer más claros, evitaremos toda discusión, indicando lo más substancial de las investigaciones de Fol, van Beneden, Boveri, Hertwig, Carnoy, van der Stricht, Heidenhain, Meves, etc.

Reducción en el óvulo.—En esta descripción nos referiremos, sobre todo, al óvulo del *ascaris megalocephala,* donde el proceso ha podido estudiarse más detalladamente que en los equinodermos y vertebrados inferiores.

Hay que distinguir en este proceso: la *profase* y la *reducción* propiamente dicha.

Profase.—El ovocito de primer orden del *ascaris bivalens* (1) del caballo, contiene un protoplasma granuloso, salpicado de in-

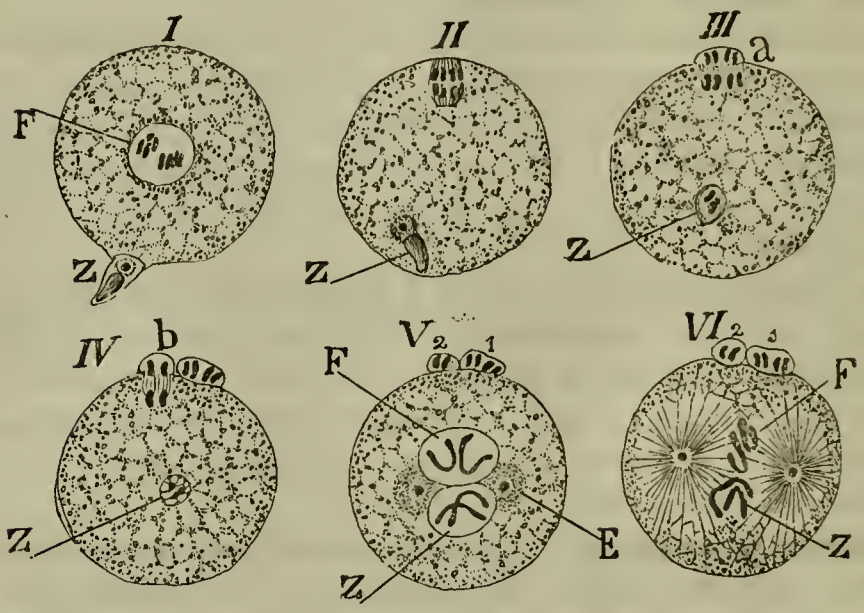

Fig. 132. — Fases del proceso de la conjugación y del de la eliminación de los corpúsculos polares en el óvulo del *ascaris megalocephala bivalens*; según O. Hertwig.

F, nucleo femenino; Z, núcleo derivado del zoospermo; E, esfera atractiva; *a*, formación del primer corpúsculo polar; *b*, formación del segundo corpúsculo polar.

Fase I. El zoospermo Z, penetrando en el óvulo. — *Fase II.* El núcleo del óvulo se prepara para eliminar el primer corpúsculo polar. — *Fase III.* Eliminación del primer corpúsculo polar y transformación del zoospermo en núcleo. — *Fase IV.* Eliminación del segundo corpúsculo polar y fase de descanso del núcleo masculino.—*Fase V.* Aproximación de los núcleos masculino y femenino, cada uno de los que posee dos asas cromáticas.— *Fase VI.* Formación de una estrella madre con las cuatro asas cromáticas, de las que dos son masculinas y dos femeninas.

clusiones, una fina membrana de cubierta y un núcleo provisto de cuatro bastoncitos cromáticos, dos de los cuales deben ser eliminados. Pero antes de esta eliminación, prodúcese un au-

(1) Existen dos tipos de *ascaris,* según el número de cromosomas que encierran el óvulo y zoospermo maduros, es decir, después de la reducción: el *tipo univalens* ó de v. Beneden, que se caracteriza porque las células somáticas poseen dos cromosomas y uno no más el óvulo maduro; y el *tipo bivalens* (Hertwig) ó de Carnoy, en que las células somáticas albergan cuatro cromosomas y dos el ovocito á punto de conjugación.

mento de cromosomas, en virtud de un mecanismo difícil de analizar.

Discrepan los histólogos tocante á la interpretación de los fenómenos nucleares de la profase. Ni el número de observaciones publicadas acerca de este punto, permiten todavía una síntesis definitiva. En razón de lo cual, y en tanto son recolectados todos los datos del problema, nos limitaremos aquí á consignar algunos dictámenes de valía.

Según Boveri, sabio de gran autoridad en la materia, la profase ó período metamórfico comprende, en el *ascaris megalocephala bivalens,* los actos siguientes: *a,* durante la fase de ovogonia, los cuatro cromosomas somáticos ó característicos de la especie redúcense á dos por reabsorción de una pareja; *b,* ulteriormente, el par restante divídese longitudinalmente dos veces seguidas, con que resultan ocho cromosomas; *c,* estos ocho cromosomas forman tetradas, y cada una de éstas, por apartamiento transversal, genera un grupo de cuatro bastoncitos cortos; *d,* en fin, con el primer acto de reducción (véase más atrás eliminación del primer corpúsculo polar) son descartados cuatro cromosomas y con el segundo dos. Compréndese ahora bien por qué el proceso de reducción elimina en el *ascaris,* según dejamos dicho, los dos tercios de la cifra cromosomática del ovocito.

En sus líneas generales, la descripción precedente ha sido confirmada en el *ascaris* por O. Hertwig y Brauer. Sin embargo, es opinión muy difundida hoy, que el fenómeno de reabsorción de dos cromosomas, supuesto por Boveri, es sólo aparente y que la mencionada reducción inicial (antes de la fisuración longitudinal) se explica sencillamente considerando que el espirema (filamento continuo) de la ovogonia, se segmenta transversalmente, no en los cuatro cromosomas característicos de la especie, sino en su mitad. Así, en el *ascaris megalocephala bivalens* formaríanse solamente dos cromosomas, de los cuales, en virtud de fisuración longitudinal sucesiva, nacerían dos tetradas. La reducción, pues, es sólo aparente, restableciéndose nuevamente, después de la eliminación del primer corpúsculo polar, la cifra normal de cuatro cromosomas.

Reducción propiamente dicha.— 1.° El núcleo pierde su membrana y se hace periférico; llegado cerca de la superficie celular, surge entre los bastoncitos cromáticos un huso de cortas di-

mensiones (fig. 132, II), en torno del cual, estos últimos se alinean en dos haces de á cuatro hilos cada uno.

2.° Divídese ecuatorialmente el pequeño huso formado y sepárase del cuerpo celular un trozo de protoplasma periférico, que arrastra consigo cuatro bastones cromáticos (fig. 132, III). El corpúsculo independiente que resulta sitúase por fuera del óvulo y toma el nombre de *primer corpúsculo polar.*

3.° Acto continuo, y sin que preceda fase de descanso, ni de ovillo, engéndrase otro huso en el mismo paraje del anterior, y los cuatro bastoncitos que en el óvulo quedaron se reparten en dos grupos (fig. 132, IV). Una nueva é idéntica segmentación periférica del protoplasma, origina el *segundo corpúsculo polar;* de este modo el núcleo ovular queda reducido á dos filamentos cromáticos. Los dos corpúsculos polares no se aprovechan para nada, degenerando y destruyéndose ulteriormente. Al primero se le ha visto proliferar alguna vez, generando dos óvulos abortivos.

Reducción en los zoospermos. — Se ha observado el fenómeno en las células madres de zoospermos del *ascaris,* y se ha visto también en los zoospermos de los mamíferos y en un gran número de especies animales.

El proceso recorre las mismas fases que en el óvulo, abocando á la eliminación, mediante dos actos de partición sucesivos, de una porción de la cromatina del zoospermo.

Profase. — En la figura 133 presentamos las fases del proceso de maturación del espermatocito del *ascaris megalocephala univalens,* según Brauer.

Durante la profase, los dos cromosomas característicos de este tipo fúndense en largo filamento cromático (A), el cual se hiende longitudinalmente dos veces; engéndranse así cuatro bastoncitos que se acortan y engruesan notablemente, adquiriendo aspecto varicoso (B); después, cada cromosoma se transforma en esfera, generándose una tetrada. Naturalmente, si se tratara del *ascaris vivalens*, el proceso desembocaría en la producción de dos tetradas. En otros animales, por ejemplo, en los insectos, según se advierte en la figura 135, el número de tetradas resultantes es mayor.

Reducción propiamente dicha. — Constituído el primer huso de la mitosis de reducción, elimínanse dos cromosomas (figura 133, D). Una nueva división del huso, previa reconstrucción del mismo, da lugar á la eliminación de otro cromosoma. Queda, por tanto, uno solo para obrar el acto de la conjugación. Dicho se está que si se tratara del *Ascaris bivalens*, en donde son cuatro

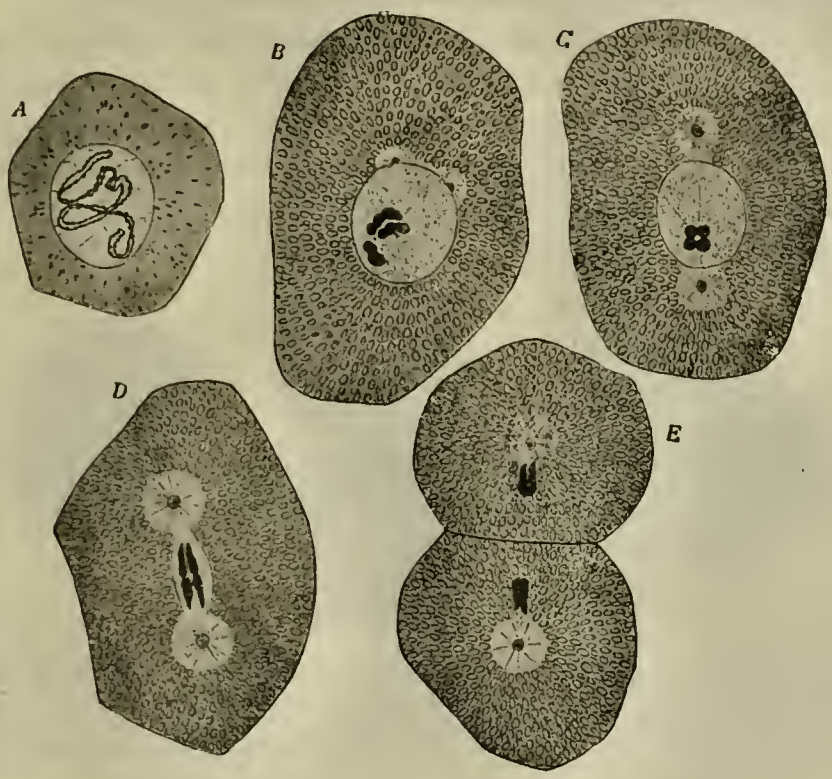

Fig. 133. — Primera división de maturación en los espermatocitos del *Ascaris megalocephala univalens* (según Brauer). Los dos cromosomas fúndense durante la profase en largo filamento, el cual se hiende longitudinalmente dos veces seguidas. — B, los cuatro filamentos así formados se encogen y acortan espesándose notablemente; C, transformación de los cromosomas en esferas; D, formación de un huso y alargamiento de las esferas que se disponen en fase de placa ecuatorial; E, eliminación de dos cromosomas.

los cromosomas del animal adulto, el resultado fuera la reducción á dos, como en el caso citado del óvulo.

Las células resultantes de las citadas divisiones corresponden á los corpúsculos polares del ovocito; pero con una diferencia esencial: los globos polares de éste son corpúsculos abortivos que acaban por sucumbir, mientras que los corpúsculos polares

del espermatocito representan elementos viables, equivalentes, y aptos para la conjugación (véase el esquema 131).

Otra diversidad cardinal separa al ovocito del espermatocito. Mientras el ovocito, eliminada la cromatina, hállase ya listo para la conjugación, el espermatocito debe sufrir antes del acto cardinal de la *amfimixis* cambios morfológicos y estructurales importantes (véase más adelante la *espermatogenesis).*

Estos cambios, resultado de adaptaciones anatómicas á la función de la pesquisa del óvulo y ruptura de la *zona pelúcida,* consiste esencialmente en la organización de un aparato locomotor y en disposiciones morfológicas adecuadas á la traumatización del ovocito.

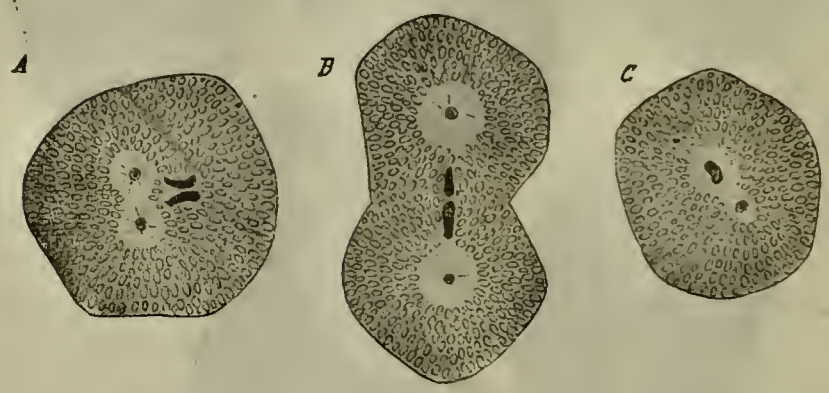

Fig. 134.—Segunda división de maturación en los espermatocitos del *Ascaris megalocephala univalens* (según Brauer). — A, división del centrosoma; B, formación del huso y separación de los cromosomas; C, después de la segmentación protoplásmica ha quedado un cromosoma con una esfera atractiva.

Penetración del zoospermo y conjugación de los núcleos masculino y femenino.—He aquí las fases del procesos en el *ascaris megalocephala bivalens,* según Beneden, Boveri, Carnoy, Zacharias, etc., fases que coinciden en gran parte con las descritas por Fol en el *asteria glacialis.*

1.° El zoospermo, que en el ascaris tiene una forma conóidea (fig. 132, Z, I), disuelve en un punto la fina membrana de cubierta del óvulo, y penetra en el espesor del protoplasma. La cola y demás accesorios desaparecen, quedando solamente perceptible un grano cromático (fig. 132, II, Z) que corresponde á la cabeza del zoospermo de los mamíferos. En cuanto la pene-

tración es completa, la membrana ovular se refuerza por una nueva y más espesa cubierta, á fin de evitar la intrusión de nuevos zoospermos.

En muchos óvulos, los fenómenos de reducción preceden á la entrada del filamento seminal; pero no sucede así en los del *ascaris,* donde, antes de la expulsión del segundo corpúsculo polar, ya suele esperar el núcleo zoospérmico en el centro del protoplasma (fig. 132, IV).

Fig. 135. — Origen de las tetradas durante la profase ante-reductriz en el *Gryllotalpa vulgaris* (según Rath. — *a,* espermatocito de primer orden; *b,* hendimiento longitudinal del espirema; *c,* fragmentación de éste en seis cromosomas; *d, e,* los cromosomas se transforman en anillos mediante fisuración longitudinal con adherencia de sus cabos; *f,* condensación de la cromatina de cada anillo en cuatro grumos; *g* y *h,* formación definitiva de las tetradas.

2.° Acabada la expulsión del segundo corpúsculo de reducción, el núcleo femenino se acerca al masculino, situándose ambos en el centro del óvulo; cada núcleo ó *protonúcleo,* como también se designa, aparece compuesto de una membrana acromática y de una red cromática (fig. 136, A).

3.° En el protoplasma ovular surgen dos esferas atractivas, que se colocan una en un lado y otra en el opuesto de la pareja de protonúcleos (fig. 132, V, E). Estas esferas provienen, según Boveri, de la partición de la esfera atractiva aportada por el zoospermo. En la figura 136, B, preséntanse las fases de esta división, que comprende también el centrosoma.

4.° Las membranas nucleares desaparecen, y la cromatina de cada núcleo se transforma en una pareja de bastones cromáticos de gran longitud (fig. 132, V, F y fig. 136, C).

5.° Entre las esferas atractivas se advierte ahora un huso acromático, cuyo ecuador atrae los hilos acromáticos sueltos, engendrándose una figura mitósica que corresponde á la llamada *estrella madre*. De estos cuatro filamentos, dos son masculinos y dos femeninos (fig. 132, VI y fig. 136, D).

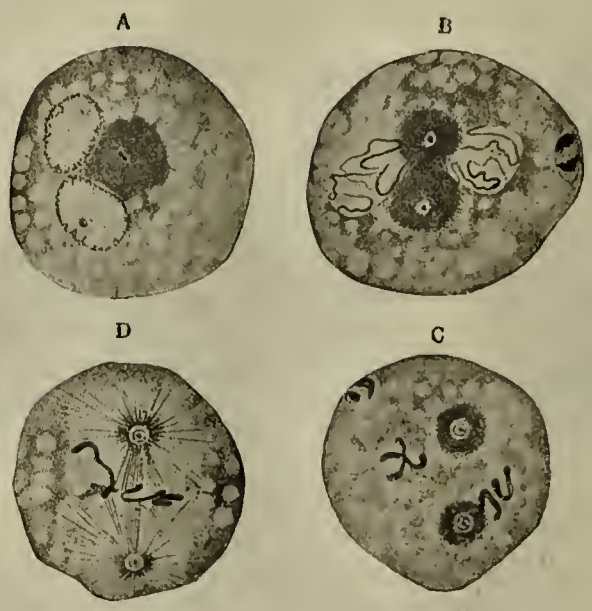

Fig. 136. — Fases de la partición del óvulo después de la penetración del zoospermo y de la formación de los dos protonúcleos (masculino y femenino. – A, partición del centrosoma del zoospermo y protonúcleos en fase de descanso; B, protonúcleos en fase de espirema; C, reabsorción de las membranas nucleares y liberación de los cromosomas; D, fase de metaquinesis (según Boveri).

6.° Las asas ó cromosomas divídense longitudinalmente, produciendo ocho filamentos, de los cuales cuatro se dirigirán á un polo y cuatro al otro. Resultan, por consiguiente, formadas dos estrellas hijas, en las cuales se contienen dos asas cromáticas masculinas y dos femeninas.

7.° Acábase la división carioquinética, constituyéndose dos núcleos hijos en descanso y segmentándose el protoplasma. En adelante, la multiplicación de las células ocurrirá por mitosis

común. El proceso será siempre iniciado por la segmentación de la esfera atractiva.

Se ve, por lo expuesto, que el acto de la fecundación consiste esencialmente en la construcción de una figura de estrella madre, en la cual, de sus cuatro asas integrantes, dos tienen representación masculina y dos femenina. No existe, pues, fusión de los protonúcleos paterno y materno, sino reparto de las cromatinas sexuales, de tal suerte que, en toda división celular ulterior, se conservará exactamente el mismo número de filamentos cromáticos masculinos y femeninos. Esta independencia de los cromosomas masculinos y femeninos, ha sido reconocida por Rückert (1895) hasta en los núcleos en fase de descanso (esferas de segmentación de las larvas de *Cyclops),* en los cuales se ven dos grupos laterales de asas, constantemente separados, uno formado por los cromosomas paternos y otro por los maternos.

Esta interesante disposición, que ha sido confirmada por Hacker (1895) en los crustáceos, y por Zoja (1896) en el *ascaris megalocephala,* prueba que todo núcleo posee una simetría bilateral, es decir, que los cromosomas paternos colocados á un lado del eje orgánico del núcleo, son iguales en número y forma que los maternos situados en el otro.

Dado que el acto esencial de la conjugación consiste en la reunión de la cromatina del zoospermo con la del óvulo, y teniendo en cuenta que el protoplasma paterno ó zoospérmico añadido al óvulo, es una cantidad despreciable comparada con la de éste, resulta muy verosímil la opinión defendida por Strasburger, Oscar Hertwig, Kölliker, Weissmann, etc., de que el *substractum* por el cual los padres transmiten sus cualidades á los hijos, la *materia de la herencia,* en fin, nò es otra cosa que la substancia del núcleo y del corpúsculo polar. Sólo estas partes concurren en cantidades iguales y con propiedades fisico-químicas idénticas al acto de la fecundación. El protoplasma del óvulo representaría principalmente un órgano vegetativo, indispensable á la nutrición y renovación de la materia hereditaria.

No obstante, en las células de los tejidos adultos, cuyo protoplasma desempeña actividades importantes de carácter hereditario, ciertas partículas nucleares (leucitos) del núcleo pater-

nal ó maternal, podrían emigrar al protoplasma. Esta hipótesis ha sido sugerida por De Vries. Pero podría suceder también que en el fenómeno de la herencia de las actividades protoplasmáticas de la célula colaborarían, como defiende Meves, las mitocondrias, las cuales pasarían desde el protoplasma del zoospermo y del óvulo á las primeras células del embrión. No hay que olvidar la posible participación del aparato de Golgi, susceptible, como los demás organitos del protoplasma, de repartirse en las células hijas en el acto de la segmentación post-conjugatoria, según han observado Perroncito (1912) y Deineka (1913).

En el proceso de la fecundación existen todavía muchos puntos dudosos. Uno de ellos es el origen de las esferas atractivas que preceden al acto de la conjugación de las asas cromáticas. Para Boveri, el ovocito carece de esfera atractiva y centrosoma, que serían aportados por el zoospermo. Una vez llegadas al óvulo, el centrosoma y la esfera se dividirían, generándose así los polos del primer huso acromático (figura de conjugación). Sin embargo, el óvulo no sería incapaz de crear un centrosoma en caso de faltarle el del zoospermo. Los experimentos de partenogenesis artificial efectuados por Wilson en la estrella de mar prueban que el óvulo es susceptible de entrar en proliferación y de producir las radiaciones del aster, el huso y los centrosomas, sin el concurso del espermatocito.

Individualidad de los cromosomas.—Una de las hipótesis sostenidas con más convicción y copia de argumentos, por Boveri, es la individualidad de los cromosomas. Hemos visto que, en efecto, las células de cada animal poseen un número fijo de filamentos cromáticos, característicos de la especie, y que en el fenómeno de reducción se elimina la mitad para reconstituirse después de la conjugación de la cifra normal. Parece, pues, probable que cada cromosoma (*idante* de Weissmann) representa una unidad invariable de materia viva persistente al través de los actos proliferatorios. En principio, esta teoría de Boveri es aceptable. Mas, formulada en términos absolutos, implica errores y exageraciones, con razón combatidas por Fick, Hertwig, Brauer, Carnoy, Wilson, Delage, etc. Algunos de estos sabios sostienen que los cromosomas representan unidades transitorias que se deshacen y regeneran durante los fenómenos mitósicos, perdiéndose la filiación de la individualidad de cada filamento. Los fenómenos acaecidos durante la profase del proceso de maturación, hablan en favor de este modo de ver. Para Wilson, la verdadera unidad de la cromatina nuclear sería el grano elemental, ó la *cromiola,* la cual, al modo de los soldados durante sus maniobras, se

distribuirían en grupos ó individualidades transitorias de forma y número variables.

Significación del proceso reductivo ó de eliminación cromática.—En cuanto al valor y significación del singular fenómeno de la expulsión de las asas cromáticas, los dictámenes de los sabios no están de acuerdo. Todos, sin embargo, coinciden en que esta reducción es necesaria para que el núcleo resultante de la fecundación contenga la misma cantidad de cromatina ó de substancia hereditaria; pues es evidente que si no hubiera reducción preliminar á cada fecundación, dicha materia se duplicaría y, al cabo de algunas generaciones, alcanzaría proporciones colosales. Es posible que el fenómeno de la reducción tenga todavía más hondo sentido y que se relacione, como quiere Weissmann, con la necesidad de facilitar el progreso, eliminando el plasma ó la representación hereditaria de nuestros antepasados más lejanos. Para Boveri, los corpúsculos polares representan óvulos abortivos de significación atávica, reproduciendo imperfectamente un fenómeno de multiplicación normal en la célula madre de zoospermos. Esta opinión gana de día en día partidarios.

La producción de dos globos polares tiene algunas excepciones. Así Sobotta (1896), en su trabajo sobre la fecundación en el anfioxus, sólo ha podido confirmar la existencia de un globo polar ó de dirección. En este mismo animal los protonúcleos, femenino y masculino, se fundirían en su fase de reticulación, siendo imposible, por tanto, la demostración de la independencia de las cromatinas paterna y materna. También en la fecundación del óvulo del ratón se formaría á menudo un solo cuerpo de dirección, el cual se originaría por partición transversal de los cromosomas preexistentes y no por eliminación de asas separadas. En fin, en muchos casos, á la reducción *numérica* de los cromosomas se juntaría también una *reducción cuantitativa* de la materia cromática.

Significación del zoospermo en el proceso de la evolucion ovular.—Creencia general es que la evolución embrionaria se debe al hecho de la conjugación de la cromatina paterna y materna con que el óvulo recibe un impulso determinante de la proliferación. Incuestionable es la acción excitadora del zoospermo; mas cuando se intenta precisar cuál sea el órgano celular de éste cuyo influjo estimulante es condición necesaria de la evolución del ovocito, surgen dudas y se plantean problemas de ardua solución.

Para la mayoría de los histólogos, la materia excitadora, indispensable al desarrollo del óvulo, sería la cromatina zoospérmica.

Según dejamos consignado, Boveri la identifica con el centrosoma del espermatocito. Pero los experimentos de merogonia y espermatogénesis experimental nos llenan de incertidumbre, pues enseñan que ninguno de los factores constitutivos del zoospermo, ni siquiera

el núcleo del óvulo, son indispensables al proceso de la evolución embrionaria.

Así, O. y R. Hertwig agitan óvulos de equinodermos en agua de mar. Durante esta maniobra, muchos huevos se rompen en trozos, algunos de los cuales carecen de núcleo. Pues bien, estos trozos anucleados se dejan fecundar y se segmentan como un óvulo normal. Boveri y Delage, que han repetido estos experimentos, afirman que dichos ovocitos engendran larvas pequeñas, pero normales. Luego el núcleo ovular no es condición obligatoria del desarrollo embrionario.

Nuevos experimentos de los hermanos Hertwig sobre la fecundación de los batracios con zoospermos irradiados, es decir, tratados por las emanaciones del *radio* (lo que destruye á menudo los cromosomas zoospérmicos), enseñan que la nucleína zoospérmica no es necesaria para el desarrollo del óvulo. La acción puramente excitadora del zoospermo basta para ello. El embrión resultante se desarrolla bien, pero en sentido partenogenético, ya que no ha intervenido para nada la materia de la herencia. Estos curiosos experimentos abren á la biología luminosos horizontes. Algunos autores, Ives Delage, por ejemplo (1913), hablan ya de que en el hombre mismo pueden existir engendros partenogenéticos. El alcoholismo, la sífilis, etc., podrían destruir la capacidad de transmisión hereditaria del zoospermo, sin estorbar las cualidades fertilizantes del mismo. El engendro así producido podría compararse con esas larvas de equinodermo ó de batracio, generadas artificialmente en los laboratorios, sin el concurso de los zoospermos, á causa de haber sido éstos reemplazados por excitantes químicos ó físicos del óvulo.

No menos interesantes son los experimentos de partenogenesis artificial de Loeb. Este sabio somete huevos no fecundados de erizo de mar durante dos horas, al agua de mar adicionada de ciertas sales metálicas, particularmente del cloruro de magnesio; después los abandona en el agua de mar natural.

El óvulo se desarrolla como si hubiera sido fecundado; las sales de magnesio obraron la excitación. Otras substancias actúan igual (ácido carbónico, estricnina, agua de mar saturada por evaporación, extracto de esperma del mismo animal, el ácido butírico). El embrión desarrolla una larva, al parecer normal. Luego el zoospermo no es absolutamente indispensable á la evolución embrionaria.

Estos resultados, comprobados por Wilson y otros, prueban que el ovocito maduro lleva consigo todas las condiciones esenciales al desarrollo embrionario. Para salir de su quietismo le es menester solamente el choque estimulante del zoospermo, que puede ser sustituído, al menos en ciertos invertebrados, por excitantes químicos inorgánicos. En todo caso, y aparte este efecto excitante del zoospermo, la

amfimixis ó mezcla de las cromatinas paterna y materna, parece ser necesaria para el fenómeno de la herencia y la robustez y progreso de la especie, ya que tanto las larvas partenogenéticas, como los embriones procedentes de óvulos anucleados, representan seres enclenques, abortivos, incapaces de alcanzar la fertilidad y plena madurez de la especie (1).

Desarrollo embrionario. — Las sucesivas particiones del óvulo fecundado dan origen á un conglomerado celular, todavía contenido bajo la membrana pelúcida, que se llama fase de *morula*. Los corpúsculos de que consta desígnanse *blastomeras*.

En la fig. 137 mostramos las fases que preceden á la morula, desde la aparición de la primera pareja celular (A) hasta la edificación de un conglomerado de corpúsculos pequeños, esferoidales, de tamaño algo desigual. Adviértase que, desde la primera división, una de las blastomeras resultantes es más pequeña y obscura que la compañera, generando una estirpe celular que mantendrá tales caracteres y habitará de preferencia en la región central de la morula (fig. 137, *p* y *o*). En fin, como las blastomeras de una misma generación no siempre se dividen simultáneamente, la cifra celular de la morula puede ser impar.

La dirección en que sobrevienen las sucesivas particiones del óvulo, y la posición de las células hijas en éste, se subordinan á las siguientes leyes:

(1) Recientemente (1909 á 1912) ha continuado Loeb sus experimentos de patogenesis artificial y perfeccionado sus métodos. En sustitución del zoospermo aplica este sabio á los óvulos de *erizo de mar* dos tratamientos: el *membranógeno*, así llamado porque crea rápidamente una recia cutícula periovular, y consiste en poner los óvulos durante unos minutos en una solución de ácido butírico; el *hipertónico*, consistente en someter dichas células á una solución concentrada de sal común en agua de mar, lo que equivale al aumento de la presión osmótica. Ulteriormente, llévanse los huevos al agua de mar, donde se verificará el desarrollo embrionario. La referida técnica sustituye solamente la virtud activadora ó estimulante del zoospermo; claro es que no la transmisora de caracteres hereditarios paternales.

Acerca de las teorías aclaratorias de dicha acción activadora de las soluciones hipertónicas, no podemos detenernos aquí. El lector que desee profundizar este punto, debe consultar las Memorias originales de Loeb, Bataillon, hermanos Hertwig, I. Delage, etc., y mejor aún el libro de *I. Delage y Goldschmith*, titulado: *La parthenogénése naturelle et experimentale*. París, 1913.

1.ª El primer plano de segmentación del óvulo coincide con el plano de reunión del proto-núcleo masculino y femenino.

2.ª En las biparticiones sucesivas los planos de división se orientan alternativamente en las tres dimensiones del espacio, es decir, que la sección del protoplasma es, en cada partición, perpendicular al plano de la segmentación anterior (Sachs y O. Hertwig).

3.ª En cada célula presta á segmentarse; la dirección del huso acromático coincide con el eje mayor del protoplasma.

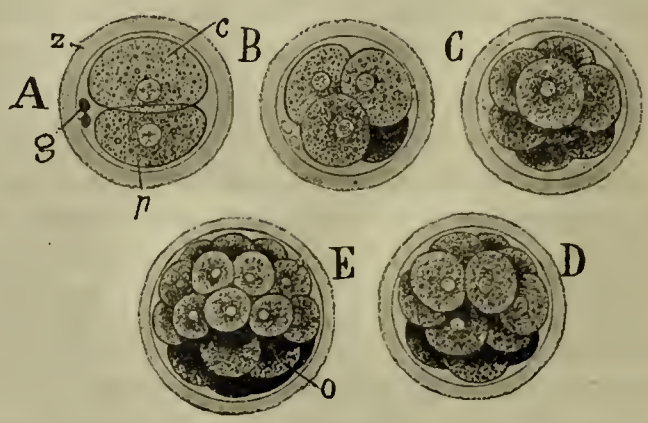

Fig. 137. — Primeras fases de la segmentación del óvulo fecundado de mamífero, según E. van Beneden (dibujo de A. Thomson). — *z*, zona pellúcida; *g*, glóbulos polares; *c*, blastomera clara; *p*, blastomera más pequeña y obscura; A, fase de dos células; B, fase de cuatro células; C, E, D, formación de la morula; *o*, elementos obscuros cuya proliferación se retarda con relación á los claros.

4.ª En los arreglos de las células resultantes de la división del óvulo, desempeñan importante papel los *tropismos*, particularmente el *citotropismo* ó atracción recíproca de las esferas de segmentación (Roux).

El precedente mecanismo constructivo de la *morula*, pertenece á los mamíferos (exceptuados los *monotremos*). El huevo fecundado de dichos animales desígnase *holoblástico*, á causa de que toda la yema ó protoplasma del ovocito toma parte en la formación de las blastomeras y ulteriormente en la del embrión. Mas no sucede así en las aves, reptiles, peces y mamíferos monotremos, en los cuales sólo una porción del óvulo (*polo animal*) se aprovecha para la producción del embrión, sirviendo el resto para construir el *saco vite-*

lino (suerte del reservorio alimenticio formado por la yema) y las membranas del huevo. Semejante categoría de óvulos dotados de copiosas reservas alimenticias, llámanse *meroblásticos.*

Fase de blástula. — Al principio, las referidas esferas de segmentación constituyen una masa maciza, pero no tarda en aparecer un líquido central que rechaza hacia la periferia las células, las cuales se disponen en membrana por debajo de la zona pellúcida. Esta capa celular es continua, forma una verdadera vesícula cerrada y se designa con el nombre de *blastodermo.*

Las gradaciones evolutivas de la blástula aparecen en la figura 138, *a,* tomada de van Beneden. Repárese que, ya duran-

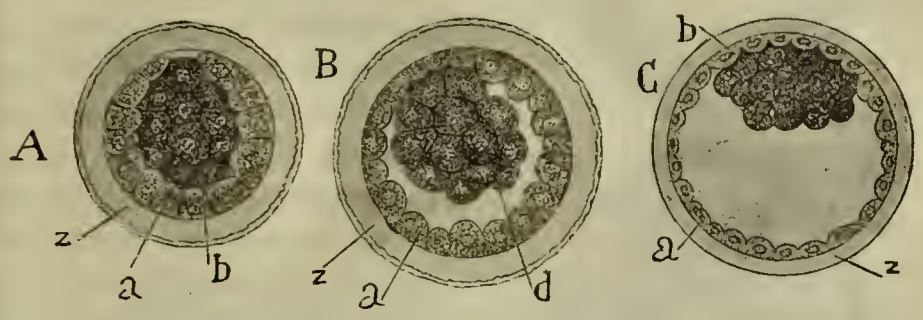

Fig. 138. — Fases de la formación de la blástula en el embrión del conejo, según van Beneden. — A, morula en la cual se señala ya una capa superficial de células claras *(a),* y un centro poblado de células obscuras *(b);* B, las células claras *(a)* producen una membrana, el trofoblasto; *d,* células obscuras de que provendrá el entodermo; C, D, fases más acentuadas de la formación de la blástula; *a,* trofoblasto; *b,* rudimento del entodermo; *z,* zona pellúcida.

te el estadio de morula, las células centrales de ésta afectan cierta turbidez *(b)* que no tienen las periféricas, las cuales se separan de aquéllas menos en un paraje, en donde se mantiene el contacto *(d).*

Sucesivamente, la cavidad que media entre ambas formaciones se amplía, y la blástula aparece constituída por una hilera exterior de corpúsculos claros *(blastodermo* de los autores antiguos, *trofoblasto* de Hubrech, 1902) y por un *acúmulo* interior de corpúsculos esféricos obscuros, solamente extendidos sobre un territorio limitado del blastodermo (fig. 138, *d, b).*

Hace algunos lustros considerábanse ambas formaciones de igual valor embriogenético. Mas los modernos embriólogos han

puesto fuera de duda su muy diversa significación. El *trofoblasto* ó *blastodermo* no colabora directamente en la formación del embrión, limitándose á suministrar los materiales indispensables al establecimiento de relaciones nutritivas entre el huevo y la mucosa uterina (placenta fetal); al paso que el conglomerado interior de corpúsculos obscuros queda afecto á la construcción del embrión y de sus membranas, mereciendo, con buen título, el nombre de *germen embrionario* (fig. 138, *b*).

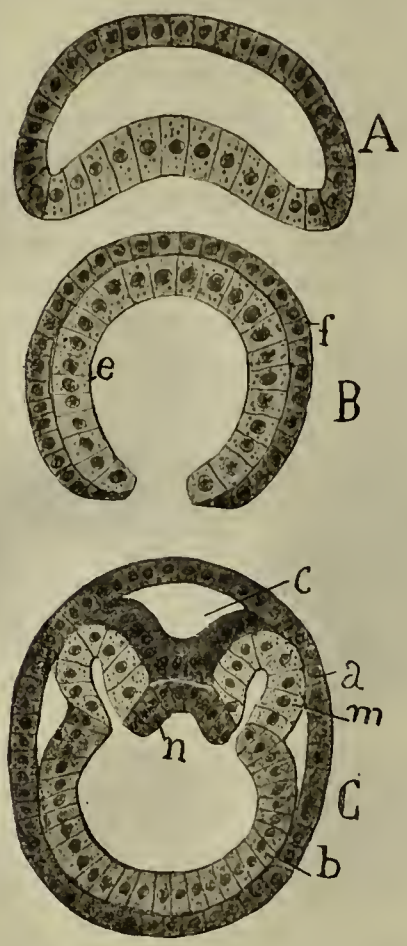

Fig. 139. — Fases del desarrollo embrionario del Amphioxus, según Hatschek. — A, invaginación del blastodermo (polo inferior) para la formación de la gástrula; B, gástrula provista de dos hojas: *e*, entodermo; *f*, hoja externa ú ectodermo; C, producción del mesodermo *(m)* por invaginación del entodermo; *n*, porción entodérmica que se transformará en notocorda; *c*, canal medular; *a*, ectodermo; *b*, entodermo.—Nota: Aquí no existe el trofoblasto.

Dicho acúmulo interior extiéndese sucesivamente por debajo del trofoblasto, modélase después en membrana y en tal disposición se la conoce con la designación de *entodermo*.

Resulta, pues, indiscutible, que en los mamíferos, el entodermo representa la primera membrana propiamente embriogenética.

Fase de gástrula. — La formación de la gástrula se ha estudiado muy bien en el anfioxus por Hatschek. En la figura 139 mostramos las fases principales de este proceso. Nótese que, merced á la invaginación de un lado de la vesícula blastodérmica, constitúyese la *gástrula*, en la cual existe una cavidad comunicante con el exterior *(celenterón)* y un agujero que establece la comunicación *(blastoporo)*. El pequeño espacio que resulta entre las dos hojas, se

llama *cavidad de segmentación,* y las hojas mismas se conocen con las designaciones de *ectodermo* ú hoja externa y *entodermo* ú hoja interna. En los gusanos, equinodermos, etc., la fase de *gástrula* constituye una larva independiente que se nutre por sí, experimentando algunas diferenciaciones, tales como la aparición de pestañas, etc. El colenterón hace oficio de cavidad digestiva y el entodermo de mucosa intestinal.

El mecanismo formador de la *gástrula* en los mamíferos es menos conocido que en el anfioxus, dudándose todavía de cuáles sean las fases intermedias. Desde luego dáse por excluído el trofoblasto en la creación de aquélla. Aun cuando en el estado actual de la ciencia resulta arduo escoger entre los varios y contradictorios dictámenes, dáse por verosimil que, poco después de la aparición del entodermo, es decir, cuando apenas el *germen embrionario* se ha modelado en membrana, los bordes laterales de ésta se repliegan hacia adentro, aproximándose entre sí; ulteriormente se juntan y dan origen á un tubo, esbozo de la futura cavidad gastro-intestinal. Hagamos notar que por esta época el óvulo exhibe tan sólo dos hojas: la *exterior* ó *trofoblasto* y la *interior* ó *entodermo* propiamente dicho. El *ectodermo,* que algunos han confundido con el trofoblasto, es de creación más tardía.

Formación del ectodermo.—Problema por esclarecer es todavía cómo se crea y modela en los mamíferos la membrana ectodérmica. La rapidez de la evolución del huevo durante esta fase, y la variedad de imágenes que se obtienen según los animales estudiados, son ocasión de dudas aún no disipadas. Hoy por hoy, y abandonando hipótesis, no siempre justificadas, lo único que es lícito declarar es que, en cuanto surge el entodermo, aparece seguidamente por fuera de éste, y en el punto en que la formación entodérmica toca al trofoblasto, una columna celular aplastada que representa el primer esbozo del ectodermo. En la figura 140, *b,* mostramos la fase inicial de la aparición de esta hoja en el embrión de conejo. Nótese que ocupa al principio el espacio intermedio entre el trofoblasto, también llamado *capa de Rauber* y el entodermo. Más adelante, el trofoblasto se desviará del área embrionaria y, por consecuencia, el ecto-

dermo se hará exterior, replegándose para construir el conducto medular y la cavidad amniótica. Sobre este punto preséntanse muchas variantes, según los animales explorados. Las fases de este replegamiento ectodérmico, hasta constituir el tubo neural ó rudimento del eje cerebro-raquídeo, aparecen en la figura 141, *ca*.

Formación del mesodermo. — En los vertebrados inferiores, como el anfioxus, los anfibios, los peces, etc., el mesodermo ú hoja media, resulta de un replegamiento del entodermo (figura 139, *m*). Pero en los vertebrados superiores (aves y mamíferos), el proceso de formación del mesodermo es muy discutido. En general, admítese, como ya demostró Kölliker hace muchos años, que esta hoja procede del ectodermo, precisamente del paraje de éste en donde se forma el surco primitivo del embrión.

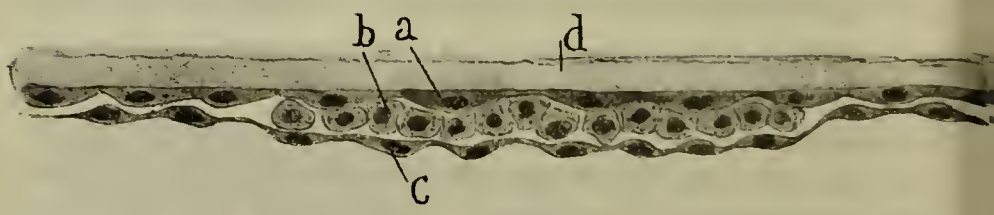

Fig. 140. — Aparición del ectodermo en el embrión de conejo de seis días, según van Beneden. — *d, zona pellúcida; a,* trofoblasto ó capa de Rauber; *b,* rudimentos del ectodermo; *c,* entodermo.

Al principio, la continuidad del ecto y mesodermo al nivel de dicho surco es claramente demostrable; pero luego rómpense los vínculos que enlazaban ambas hojas celulares, y el embrión aparece compuesto de tres membranas netamente separadas: la *interna* ó *entodermo,* compuesta de una hilera de elementos aplanados; la *externa* ó *ectodermo,* formada de células prismáticas voluminosas, particularmente abundantes al nivel del surco primitivo; la *media* ó *mesodermo,* constituída de corpúsculos menos regulares y dispuestos en dos hileras fundidas hacia adentro, es decir, cerca del surco primitivo y limitantes de un intersticio ó cavidad llamada *saco celómico* ó *celoma*. Entre los dos sacos celómicos aparece una columna hueca engendrada por un replegamiento del entodermo y situada paralelamente al surco primitivo. Esta columna se designa *notocorda*.

El mesodermo, único en la proximidad del surco primitivo (figura 141, *p)* donde se espesa para constituir el esbozo de las protovértebras, esfolíase hacia afuera (fig. 141, B), presentando una hoja ex-

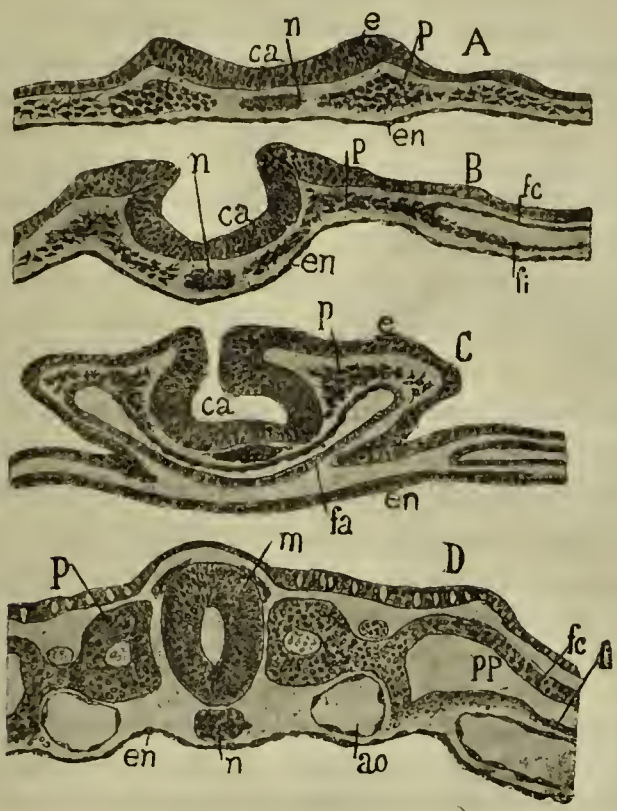

Fig. 141.—Fases de la formación del mesodermo y conducto neural en el embrión de pollo de veintitrés horas, según M. Duval. — A, corte al nivel de la parte posterior del embrión; *ca,* canal medular ó neural formado por el ectodermo *(e); n,* porción mesodérmica que originará la notocorda; *p,* porción mesodérmica constructora de las protovértebras; *en,* entodermo; B, corte del mismo embrión, pero algo por detrás de la fosa cardíaca. Adviértase que hacia fuera el mesodermo aparece dividido en dos hojas: la *fibro-cutánea (fc)* y la *fibro-intestinal (fi)*; C, corte al nivel de la fosa cardíaca. El canal medular está á punto de cerrarse para formar el conducto neural ó rudimento de los centros nerviosos; D, corte de un embrión de cuarenta y ocho horas (según Vialeton y Renaut). El conducto neural *(m)* está ya cerrado, y por fuera de él el ectodermo se ha hecho continuo, constituyendo el epidermis cutáneo; *pp,* cavidad pleuroperitoneal situada entre las dos hojas mesodérmicas; *p,* rudimento de las protovértebras; *n,* notocorda; *fc,* hoja mesodérmica fibro-cutánea; *fi,* hoja mesodérmica fibro-intestinal; *ao,* aortas; *en,* entodermo.

terna llamada *fibro-cutánea,* que engendrará el tejido conectivo de la piel, y otra hoja interna designada *fibro-intestinal,* que se aplica al entodermo y suministrará el material conectivo y muscular del intestino. La cavidad existente entre ambas láminas mesodérmicas

representa el primer espacio seroso del organismo (cavidad pleuro-peritoneal *(pp)*. La extensión del mesodermo crece progresivamente en torno del entodermo. Al principio, aquél no traspasa los límites del área embrionaria. Después, dividido ya en dos hojas, córrese por todo el huevo, rodeando enteramente el entodermo. Lo mismo sucede con el ectodermo; confinado al principio en el área embrionaria, dará la vuelta al huevo tocando á la hoja mesodérmica exterior y replegándose dorsalmente para limitar la cavidad del amnios.

Valor histogenético de las hojas blastodérmicas. — Cada hoja blastodérmica posee una significación, tanto organogenética como histogenética. El *ectodermo* sólo engendrará una categoría especial de órganos y tejidos, á saber: el epidermis cutáneo, las glándulas de la piel, el sistema nervioso, el cristalino, las mucosas bucal, ocular, etc. El *entodermo* dará origen al epitelio intestinal y sus glándulas anejas, como el páncreas, hígado, pépsicas, de Lieberkühn, etc. El *mesodermo* producirá, sobre todo, los tejidos vegetativos del organismo, tales como el conjuntivo, óseo, cartilaginoso, seroso, vascular, sanguíneo, adiposo, á los que hay que añadir algunos órganos activos como los músculos, el ovario y testículo.

Teorías embriogénicas.—*Hipótesis de la preexistencia.*—Bajo formas modernas y con las modificaciones exigidas por los progresos de la ciencia, ciertos autores, tales como Weissmann, Renaut, Roux, Hansenmann, etc., han resucitado la antigua concepción filosófica de la *preexistencia,* en cuya virtud se admitía que todas las partes constitutivas del organismo están preformadas en el germen (óvulo y zoospermo). Mas los citados sabios, en vez de imaginar como los antiguos una *preformación morfológica,* contraria á la más vulgar observación, defienden una *preformación representativa,* ó á favor de partículas de materia viva, las cuales habitarían exclusivamente en el interior del núcleo y se dispondrían en un orden constante, como en *mosaico,* según la feliz expresión de Roux. En cada una de estas partículas (bióforos, idioblastos, etc.), residirían los legados hereditarios correspondientes á un tejido, y así la mitosis inicial y segmentaciones sucesivas del óvulo fecundado tendrían por objeto seleccionar y entresacar del cúmulo de bióforos representativos los pertenecientes á cada sistema orgánico, es decir, las materias hereditarias determinantes de la especificidad anatomo-fisiológica de las células adultas. Ocurrido el reparto de las susodichas partículas ó bióforos, algunas de ellas podrían abandonar el núcleo y estacionarse en

el protoplasma, al cual prestarían la capacidad de ejercitar actividades especiales transmisibles por la generación.

La teoría del mosaico y de las partículas hereditarias repartibles alcanzó hace pocos años cierta boga. Particularmente favorables éranle las observaciones siguientes: *a)* Boveri pareció probar que durante la segmentación del óvulo del *Ascaris* se separan y diferencian dos estirpes celulares, jamás confundidas: la formadora del soma ó tejidos funcionales, y la engendradora de las células germinales (testículo y ovario); *b)* por su parte van Beneden presentó como verosímil que de las dos esferas resultantes de la partición del óvulo, una representa el germen del ectodermo y otra el del entodermo; *c)* en fin, Chabry, necrosando mediante traumatismo en el embrión de batracio una de las esferas de segmentación, consiguió semiembriones, semiblastodermos, etc.

Teoría evolutiva por condiciones exteriores. — La crítica de la primera concepción y de las observaciones en que se funda, condujo á los embriólogos á una teoría más conforme con los hechos, que puede formularse así: No existe en el óvulo arreglo topográfico de la materia de la herencia, ni representación específica de territorios histológicos. Si las condiciones exteriores son favorables, cualquiera de las regiones nucleares, y por de contado cualquiera de las esferas de segmentación en que se repartió el *subtractum* hereditario, es susceptible de engendrar la pluralidad de los tejidos lo mismo que un embrión perfecto. De donde se infiere que el núcleo no es un mosaico de bióforos representativos que se distribuyen y clasifican durante la segmentación, sino un grupo de centros evolutivos, cualitativamente equivalentes, y que encierran virtualmente el conjunto del embrión. Y si bien es indiscutible que, una vez segmentado el óvulo y formadas las hojas blastodérmicas, cada una de éstas produce familias histológicas fisiológica y estructuralmente diferenciadas, ello dependería de las diversas condiciones fisico-químicas á que dichas hojas están sometidas (Delage), y sobre todo, de la excitación funcional específica (Roux). La posición relativa de las células en los órganos primitivos, su proximidad ó alejamiento del exterior, las presiones, plegamientos y tensiones elásticas á que cada colonia celular vive sometida, son otras tantas condiciones modeladoras de la evolución de los tejidos y de la división y peculiaridad del trabajo fisiológico.

Como hechos favorables, y aun probatorios, de esta doctrina epigenética, se citan: *a)* La aptitud que todas las regiones del núcleo y protoplasma del óvulo (rana) poseen para generar indiferentemente el ectodermo ó el entodermo (el primer plano de segmentación es constantemente perpendicular al punto de penetración del zoospermo, y éste puede abordar el óvulo por cualquier lado). *b)* La posibili-

dad de obtener cuando se destruye una ó varias esferas de segmentación del óvulo, un embrión completo, aunque más pequeño. *c)* La demostración, debida á varios autores, de que en ciertos casos excepcionales, aun los tejidos más diferenciados engendran formaciones histológicas extrañas á su estirpe. *d)* En fin, si el experimento de Chabry, antes relatado y contradictorio con los resultados obtenidos por otros embriólogos, se obtienen á veces semiembriones, ello depende de que la esfera mortificada continúa ocupando su lugar, y crea á su compañera condiciones mecánicas y químicas semejantes á las existentes antes de dicha mortificación. Si en vez de matarla simplemente se la descarta ó destruye por completo, la esfera indemne desarrolla constantemente embriones completos.

CAPÍTULO IX

HISTOLOGÍA

Concepto de Histología. — Definición de tejido. — Clasificación de los tejidos.

Se llama *Histología* (de ιστος, tejido, y λογος, tratados) la sección de la Anatomía general que estudia los tejidos orgánicos.

Tejidos.— Son las masas orgánicas formadas por la asociación, en un orden constante, de células de propiedades estructurales, fisiológicas y químicas semejantes.

El tejido representa una trama celular típica, siempre idéntica en cualquier parte del organismo en que se la estudie. La reunión de varias tramas de propiedades diversas engendra los sistemas, ó sea la compleja urdimbre de los órganos. Sólo por excepción existen órganos como el cristalino, constituídos exclusivamente de un sólo tejido; los músculos, los huesos, las glándulas, etc., resultan de la asociación y entretejimiento de tres ó cuatro tejidos.

Clasificación de los tejidos. — Las analogías y diferencias que, bajo el triple aspecto de la génesis, actividad fisiológica y estructura, ofrecen los tejidos, pueden servir de base para una clasificación histológica; empero, ninguna más provechosa que la referente á la estructura, aunque en el estado actual de la ciencia no pueda fundarse en ella una clasificación completamente exenta de defectos.

He aquí la clasificación que nos parece más lógica; se funda en dos consideraciones anatómicas: el modo de unión de las células y el grado de diferenciación del cuerpo protoplasmático.

Por lo demás, este agrupamiento de los tejidos tiene muchos puntos de contacto con la clasificación de Virchow.

- *Tejidos simples.*
  - De células unidas directamente.
    - epitelial.
    - tejido del cristalino.
  - De células separadas por substancia fundamental.....
    - con substancia fundamental líquida.....
      - sangre.
      - linfa.
    - semilíquida....
      - conjuntivo.
      - adiposo.
    - sólida.....
      - cartilaginoso.
      - óseo.
      - dentario.
  - De células transformadas.....
    - muscular.
    - nervioso.
- *Tejidos compuestos*.....
  - tegumentario.
  - piloso.
  - seroso.
  - glandular.
  - vascular.

CAPÍTULO X

TEJIDO EPITELIAL

Definición. — El tejido epitelial (de επί, sobre, y θηλή, *mamelón* ó *papila)* es una trama membranosa que reviste las superficies libres del organismo, y consta de células poliédricas unidas entre sí por escasa cantidad de un cemento intersticial.

Caracteres macroscópicos.—Son los epitelios membranas transparentes ó translúcidas, elásticas, coherentes, exentas de vasos, pero no de nervios. Por una de sus caras son libres, limitando la cavidad de los órganos internos ó la superficie de la piel; por su cara profunda, se adhieren íntimamente al tejido conjuntivo, del cual extraen el plasma de nutrición.

Caracteres micrográficos de los epitelios. — La composición de los epitelios es extremadamente simple, pues constan solamente de células generalmente voluminosas, exentas de expansiones, y limitadas por facetas planas. El contacto de las células no es inmediato; entre ellas existe una materia resistente, diáfana, que se tiñe en negro por el nitrato de plata *(cemento* de unión) y se disuelve por la potasa y el alcohol al tercio. En ciertos epitelios, la unión se refuerza á favor de filamentos intercelulares.

Clasificación de los epitelios.—Atendiendo á la morfología celular, pueden distribuirse en tres grupos principales: epitelio de células aplanadas, epitelio de células alargadas ó prismáticas, epitelio de células cúbicas. Para establecer los géneros, conviene introducir el principio de la diferenciación celular.

He aquí la clasificación:

Los epitelios, son.....	De células aplanadas ó anchas....	de una sola capa.	endotelio.
		de varias capas..	epitelio tegumentario.
	De células prismáticas ó largas....	con chapa.....	intestinal.
		caliciforme.....	secretorio.
		con melanina...	pigmentario.
		con pestañas....	vibrátil.
	De células cúbicas ó cortas.....		glandular.

Endotelios. — Así fueron llamos por His aquellos epitelios aplanados, de una sola capa, semejantes á un pavimento, que tapizan las cavidades cerradas del mesodermo, á saber: el interior del árbol sanguíneo y linfático, el corazón, pleura, peritoneo, pericardio y aracnoides, las sinoviales articulares, etc. Aunque, por lo común, los endotelios reconocen un origen mesodérmico, no faltan excepciones, entre las cuales debe citarse

Fig. 142. — Endotelio del mesenterio de la rana. Coloración con el nitrato de plata y carmín. — A, endotelio de un capilar sanguineo; B, endotelio del mesenterio.

el pulmón, cuyas vesículas terminales, con ser de estirpe entodérmica, están revestidas de células aplanadas de aspecto endotelial. Hay también cubiertas endoteliales que no tapizan cavidades serosas, sino superficies de órganos en contacto con otros tejidos. Tales son, por ejemplo, las cubiertas endoteliales de la vaina laminosa de los nervios, la que rodea los haces tendinosos secundarios, la que tapiza los órganos musculo-tendíneos de Golgi, las que envuelven las células de los ganglios raquídeos, etc.

Las células endoteliales no pueden estudiarse bien sino en las preparaciones tratadas en fresco por el nitrato de plata, reactivo que produce (como ya expusimos en la *Técnica)* al nivel del cemento intercelular un precipitado negro de plata metálica que dibuja correctamente los contornos celulares. En estas preparaciones se advierte que las células endoteliales son delgadísimas, transparentes, de forma poligonal y de bordes sinuosos, íntima-

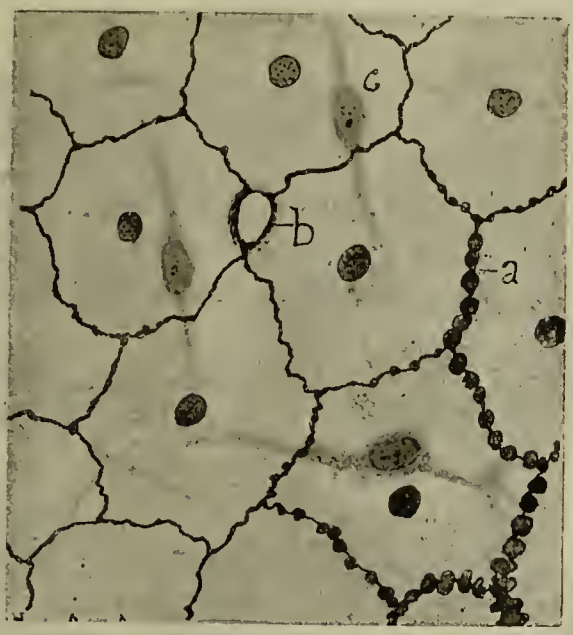

Fig. 143 —Trozo del endotelio que tapiza el epiplón mayor del conejo recién nacido.—*a*, aspecto arrosariado del cemento en los parajes en que la membrana fué muy distendida; *b*, perforación amplia; *c*, célula conjuntiva.

mente ajustados á los de los vecinos elementos. En ciertos parajes, sobre todo en los puntos de convergencia de varias células, nótanse unos acúmulos redondeados de cemento, que algunos autores han tomado erróneamente por agujeros preformados *(estomas)*. A veces, sin embargo, las comunicaciones son reales y alcanzan considerable diámetro, según ocurre en el epiplón mayor del conejo recién nacido (fig. 143, *b)*. Tales perforaciones, que cruzan de parte á parte la membrana, son la obra de leucocitos emigrantes.

Dada la extrema transparencia y delgadez de dichas células,

es difícil de apreciar el retículo protoplásmico, así como la membrana; en cambio, los reactivos de la cromatina denuncian constantemente la presencia de un núcleo redondo ú oval, aplastado en el mismo sentido que el cuerpo celular. De las dos superficies celulares, la libre es lisa y está lubrificada por plasma, en el cual nadan algunos leucocitos; mientras que la adherente es más áspera, toca á los fascículos conectivos próximos y, algunas veces, parece presentar, como ha indicado Bizzozero para el peritoneo, una capa basal, fina y brillante.

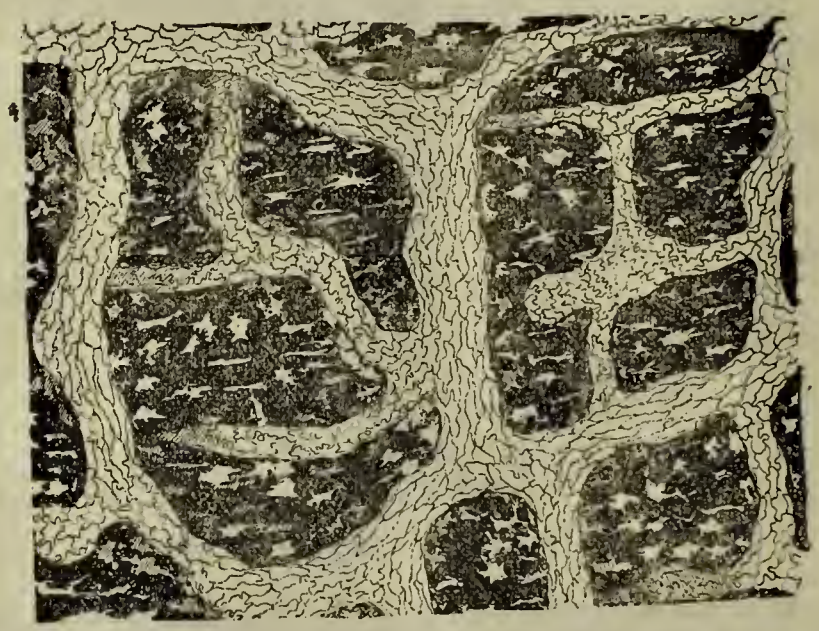

Fig. 144.— Capilares linfáticos del centro frénico del diafragma del conejo, teñidos por el nitrato de plata. Las células que resaltan en el fondo negro son corpúsculos conjuntivos.

La morfología de las células endoteliales se subordina á su topografía y á la disposición del órgano que deben revestir. Así, en las grandes serosas, dichas células son planas ó casi planas, mientras que en los capilares y fascículos tendinosos, el cuerpo celular se abarquilla, acomodándose á la forma cilíndrica del órgano. Presentan también variaciones topográficas de forma, cuyo origen no puede determinarse, las células de la pleura y peritoneo (fig. 143), las cuales son anchas, poligonales y de bordes irregulares; el endotelio vascular, cuyos elementos afectan

figura romboidal, con el eje mayor paralelo al del vaso; el endotelio de los vasos linfáticos donde dominan células irregularmente romboidales, de bordes engranados á beneficio de anchos dentellones, etc. (fig. 144). Este aspecto dentellado ha sido atribuído por Muscatello al estado de retracción de los endotelios; con la tensión, las sinuosidades de los bordes celulares desaparecerían en gran parte. En algunos endotelios, por ejemplo, en el que tapiza el centro aponeurótico del diafragma (fig. 145), faltan casi enteramente las desigualdades de los bordes. En esta

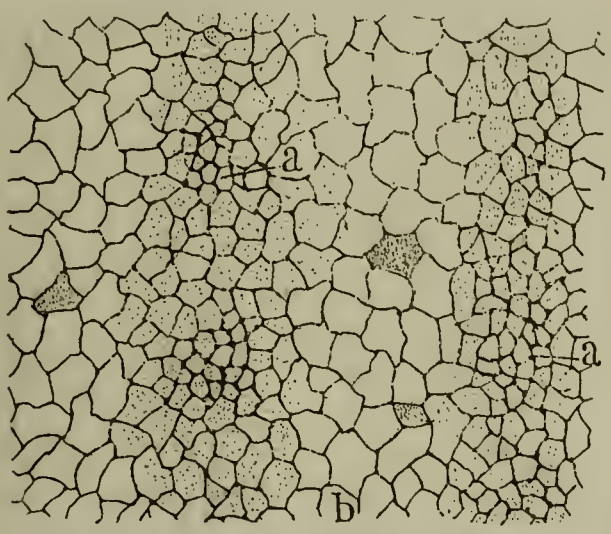

Fig. 145. — Endotelio del centro frénico del diafragma del conejo. — *a*, células situadas al nivel de una depresión intertendinosa; *b*, células correspondientes á las salientes fibrosas.

figura nótase también que la dimensión de las células varía según las localidades del diafragma: pequeñas al nivel de las depresiones, ganan aquéllas en amplitud sobre las eminencias del tejido aponeurótico (fig. 145, *b*).

Admítese, en general, que los contornos celulares están unidos solamente á favor de un cemento resistente; sin embargo, el endotelio de la membrana de Descement (cara posterior de la córnea), presenta filamentos comunicantes que fueron descritos por Preiss, Smirnow y nosotros (1), y en ciertos casos, descúbrense también filamentos de unión en las células peritoneales,

(1) Véase nuestro *Manual de Histología normal*, pág. 295.

como ya habíamos nosotros sospechado (1), y ha demostrado posteriormente Kolosow. La disposición festoneada de los bordes celulares cuando la membrana endotelial se estira demasiado (fig. 143, *a)*, habla también en favor de la existencia de dichas comunicaciones.

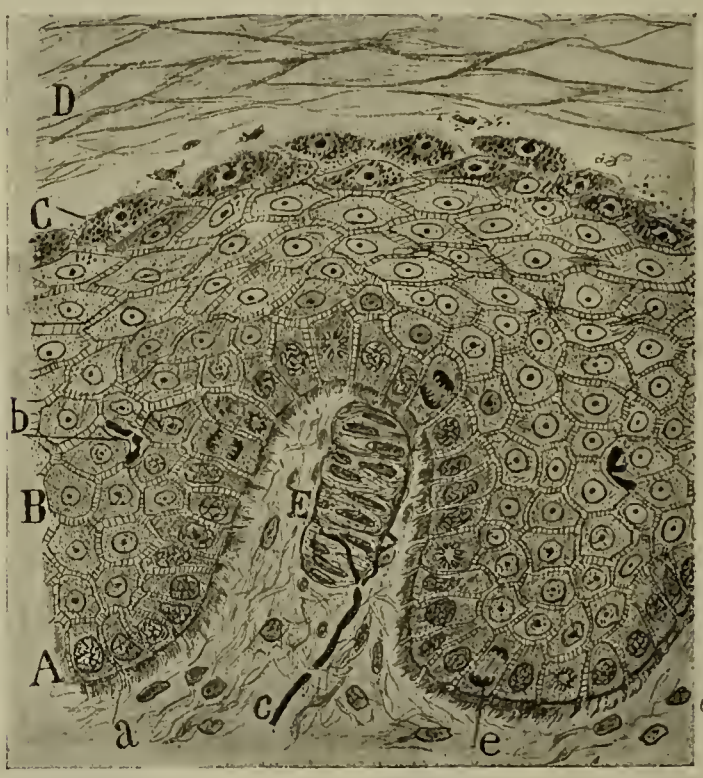

Fig. 146. — Corte perpendicular del epidermis de la piel de un dedo.— A, capa germinal; B, células intermedias del cuerpo de Malpigio; C, estrato granuloso; D, epidermis córneo; E, corpúsculo de Meissner situado en una papila del dermis; *a*, capa basal estriada; *b*, leucocito emigrado; *c*, fibra nerviosa; *e*, célula en vías de mitosis.

Epitelio tegumentario. — Trátase de un epitelio resistente, poliestratificado, que reviste todas las superficies libres expuestas á frotes y presiones enérgicas, tales como la piel, la boca, el esófago y faringe, los órganos genitales externos, la vagina y tercio inferior de la cavidad del útero, la vejiga y uretra, las cuerdas vocales inferiores, el conducto auditivo externo, etc.

(1) Cajal: *Manual de Histología normal y Técnica micrográfica*, página 296.

Tres rasgos fundamentales distinguen este epitelio de todos los demás: ser poliestratificado; constar de células poliédricas más ó menos aplastadas de fuera á dentro, y carecer de cemento sólido intercelular, ausencia compensada con la existencia de numerosos puentes de unión, es decir, de ciertos filamentos que, partiendo del retículo protoplásmico de una célula, se continúan con el retículo de las vecinas.

El tipo de los epitelios tegumentarios es el epidermis cutáneo. Cuando se examina un corte perpendicular de la piel, se advierten en el epidermis dos formaciones bien distintas: *zona superficial,* llamada *epidermis córneo,* cuyas células han perdido el núcleo, el protoplasma y todo resto de vitalidad, y *zona profunda,* designada también *cuerpo mucoso* de Malpigio, y construída de células vivas, nucleadas y provistas de protoplasma filamentoso, anastomosado con el de las vecinas á favor de hilos comunicantes (fig. 146, B).

Un examen minucioso de la *formación profunda* ó cuerpo de Malpigio, nos enseñará que no todas sus células constitutivas poseen igual forma y estructura. Bajo este respecto cabe subdividir esta zona en tres sub-estratos: *profundo ó germinal, medio ó principal, superficial ó granuloso.*

El *sub-estrato profundo ó germinal* toca las papilas del dermis y está constituído por una hilera de células cúbicas ó prismáticas, provistas por su cara inferior de una chapa ó membrana basal brillante y estriada verticalmente (fig. 146, *a).* El nombre de *germinal* lo debe este estrato á que casi todas sus células ofrecen fases de mitosis, fases que faltan casi siempre en las demás hileras celulares. Tales corpúsculos germinales tienen por misión proliferar activamente, á fin de reparar, con elementos nuevos, los continuos desgastes experimentados por la formación superficial del epidermis. Ocurrida la segmentación, una de las dos células resultantes emigra hacia arriba, recorriendo las diversas capas del epitelio, empujada por la presión de otros corpúsculos más jóvenes; mientras que la otra queda en el yacimiento primitivo, sirviendo á perpetuidad de germen epitélico.

El *sub-estrato medio* (fig. 146, B) es el más espeso, y consta de varias hileras de células poliédricas, que aumentan en volumen

y aplanamiento á medida que ocupan regiones más superficiales. Entre estos corpúsculos se perciben muy bien los filamentos comunicantes, engrosados en su cruce por el cemento á favor de tenue membrana (1) continuación de la celular (Cajal, Ide, Kromayer). Este estuche, que aparece más ó menos espesado hacia su porción central, posee una composición química algo especial, ya que se tiñe en rojo por el método de Unna y en pardo claro por el de Achúcarro (Tello). En ciertos parajes, los hilos intercelulares aparecen apartados para dar paso á leucocitos emigrantes, llegados del dermis subyacente.

Fig. 147. — Detalles del retículo y filamentos comunicantes de las células del cuerpo de Malpigio.

El *sub-estrato granuloso* (fig. 146, C) se compone de dos hileras irregulares, y á menudo discontinuas, de células poliédricas aplanadas, cuyo protoplasma encierra unas esferas brillantes colorables por el carmín, hematoxilina y anilinas básicas (*eleidina* de Ranvier, *keratohialina* de Waldeyer). A estos granitos se debe el nombre de *stratum granulosum* con que algunos autores designan este sub-estrato epidérmico. El protoplasma que alberga los granos es brillante y semiqueratinizado; sus hilos comunicantes se definen con dificultad, y el núcleo retraído y coarrugado dentro de la célula, sólo posee un grano cromático central.

La *formación superficial* (fig. 146, D) ó *epidermis córneo* consta de células aplastadas, á la manera de escamas, de tamaño considerable, de contornos inciertos y de contenido homogé-

(1) Véase Cajal: Contribution à l'étude des cellules anastomosées des épithéliums pavimenteux stratifiés. *Inter. Monatschrift f. Anat. u. Histol.*, Bd. III, núm. 7, 1886. Ide menciona nuestra observación de la membrana de las células malpigianas, así como nuestra opinión de que aquélla se prolonga con los hilos comunicantes; en cambio, Kromayer adopta nuestras ideas sin citarnos.

neo, macizo, transparente, incolorable por el carmín, tingible por el ácido pícrico, ósmico, etc., y constituído en gran parte por la queratina.

La porción más honda del epidermis córneo, fronteriza del *stratum granulosum,* presenta una homogeneidad y una diafanidad especial, por lo que se ha designado *stratum lucidum.*

El estudio de las mucosas, tales como la lingual, esofágica, vaginal, etc., nos revela substancialmente los mismos caracteres. Hagamos constar, sin embargo, que la formación córnea ó superficial de las mucosas conserva los núcleos, aunque alterados, y que el contorno de los elementos queratinizados, lejos de desaparecer como en la piel, resalta más que en los corpúsculos del cuerpo de Malpigio. A menudo falta también la capa granulosa.

Epitelio alargado ó de células prismáticas. — Constituye este epitelio revestimientos de una sola capa en casi todas las cavidades de origen entodérmico, como son: el estómago é intestino, los conductores excretores de las glándulas, la tráquea y bronquios, las fosas nasales, órganos genitales internos, conductos semicirculares, etc.

Consta de células prismáticas de cuatro ó más facetas planas, unidas entre sí por un cemento resistente. Cuando se examinan estos epitelios por su superficie libre, previo tratamiento por el nitrato de plata, se advierte que dichas células forman un mosaico poligonal bastante regular (fig. 149). Además del cuerpo, hay que considerar en estos elementos: un extremo superficial ó secretor (Hatschek), guarnecido de una cutícula provista ó no de pestañas, y un cabo profundo ó nutritivo, generalmente puntiagudo ó menos espeso que el superficial, fronterizo del tejido conjuntivo, del cual extrae, como las raíces de un árbol, los jugos nutritivos. Cerca de la superficie libre, el cemento aparece reforzado por una banda de cierre.

Las variedades principales del epitelio alargado son, atendiendo á los caracteres de estructura: las *células con chapa,* las *caliciformes,* las *vibrátiles,* las *pigmentarias* y las *neuroepitélicas.*

Célula con chapa (fig. 148, *a).* — La superficie de las vellosi-

dades intestinales, la porción excretora de las glándulas de Lieberkühn y de las pépsicas, los conductos colédoco, cístico y vejiga de la hiel, las glándulas mucosas del útero, del árbol aéreo, de la mucosa nasal, etc., aparecen revestidos por unos corpúsculos prismáticos mono-estratificados, cuya característica consiste en exhibir, al nivel de la superficie libre, una gruesa placa, de consistencia córnea, de aspecto estriado, y que ha recibido el nombre de *chapa epitelial*. Cada chapa celular se adhiere íntimamente á los bordes de las vecinas, constituyéndose un forro continuo, á manera de barniz, que separa el epitelio del líquido intestinal. Se ha discutido mucho la composición de la chapa epitelial. Algunos autores han tomado las estriaciones

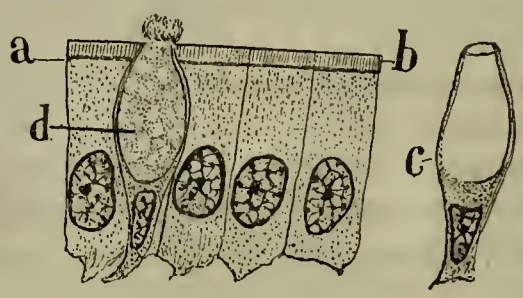

Fig. 148. — Células del intestino del conejo de Indias. — *a*, capa granulosa; *b*, chapa estriada; *d*, interior de una célula caliciforme; *c*, célula caliciforme suelta.

que en ella se advierten como conductitos preestablecidos; pero nosotros, coincidiendo con el dictamen de varios autores (Heidenhain, Schiefferdecker, etc.), nos inclinamos á considerar dicha cutícula como un pincel de bastoncitos rígidos, paralelos y estrechamente unidos, á beneficio de un cemento homogéneo y fácilmente alterable (fig. 148, *b*). Por debajo de la chapa se percibe una fina capa, de aspecto granuloso, continuada lateralmente con la membrana celular (fig. 148, *a*). En sentir de Heidenhain y Schiefferdecker, cada bastoncito de la placa se continuaría con un hilo del retículo protoplásmico y ofrecería, á su paso por dicha membrana granulosa, un minúsculo engrosamiento.

El *extremo inferior* de las células de chapa descansa en el tejido conectivo, siendo plano ó dentellado. En ocasiones da ori-

gen á expansiones ramificadas, que se pierden entre los filamentos de la capa basal. Las *caras laterales* son planas, y el cemento intercelular es alguna vez recorrido por leucocitos emigrantes (1).

Recuérdese, según indicamos ya al tratar de los cementos intercelulares, que entre los corpúsculos intestinales, por debajo de la chapa, habita una robusta *banda de cierre*.

El protoplasma de las células epitélicas del intestino contiene, conforme resulta de las observaciones de Holmgren y nuestras, una red ó aparato de Golgi bien acusado, emplazado entre el núcleo y el polo superficial del corpúsculo. En los cortes perpendiculares á las vellosidades, este sistema de oquedades aparece muy irregular, con escasos trabéculos ascendentes formados en fondo de saco (fig. 150, *a*). Los cortes paralelos al epitelio son más demostrativos, mostrando que el referido aparato (fig. 151, *a*) consta de un sistema de cordones varicosos, sobriamente anastomosados y dispuestos en red aplanada en sentido perpendicular á la célula. No es posible sorprender en nuestros preparados las comunicaciones que, en sentir de Holmgren, enlazarían los susodichos cordones con el cemento intersticial.

Fig. 149. — Células del intestino de la rana, vistas por sus cabos superficiales. Coloración por el nitrato de plata. — A, cabo de una célula caliciforme.

Células caliciformes (figs. 148, *c*, y 150, *b*). — Así llamadas, porque su cuerpo, en vez de ser sólido, posee una cavidad en forma de copa ó cáliz, comunicante con la superficie libre de la

(1) Heidenhain y Nicolás han descrito recientemente entre las células con chapa del intestino, puentes comunicantes como los que existen en el epidermis. Por nuestra parte, no hemos podido persuadirnos de la realidad de esta disposición.

mucosa. Estas células se hallan salteadas con las de chapa en las vellosidades intestinales, y constituyen la mayor parte del revestimiento de los conductos excretores de las glándulas del estómago é intestino, así como el del conducto colédoco, vejiga de la hiel, glándulas mucosas, tráquea y bronquios, etc.

Las células caliciformes poseen un cuerpo abultado y relleno de una materia transparente, de aspecto reticulado, colorable en violado rojizo por la hematoxilina, y en la cual existe cierta cantidad de mucina. El extremo profundo, á menudo adelgazado, alberga el núcleo y cierta cantidad de protoplasma que sirve de fondo á la capa celular; el extremo superficial carece de chapa y presenta un agujero redondeado, por el cual se ve salir á veces el producto segregado (figs. 148, *d*, y 149, A). El protoplasma de estas células carece de aparato de Golgi (figura 150, *b)* ó lo posee rudimentario.

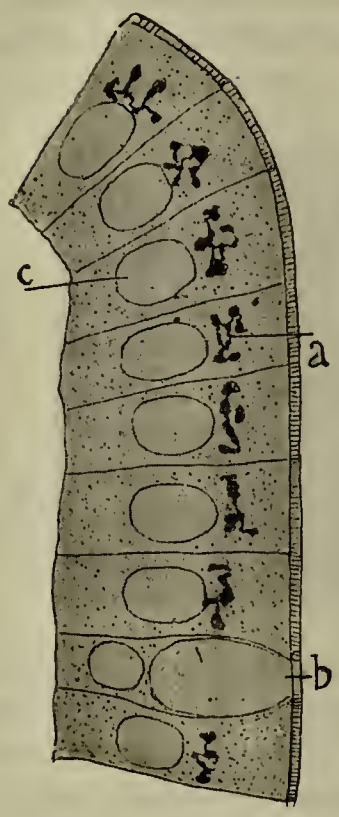

Fig. 150. — Tubos intracelulares del epitelio de las vellosidades del conejo de Indias recién nacido. — *a*, tubos; *b*, célula caliciforme (Método del nitrato de plata reducido).

Relativamente á la significación de las células caliciformes, no existe acuerdo entre los sabios. Quiénes las reputan como una fase activa ó secretora de las células con chapa (Stöhr); quiénes las consideran como células epiteliales degeneradas, destinadas á eliminarse; quiénes (y á esta opinión nos inclinamos), las estiman por glándulas monocelulares específicas y permanentes. En pro de esta opinión militan cuatro hechos: la ausencia en las glándulas mucosas é intestino de células caliciformes en vías de destrucción, es decir, sin núcleo y protoplasma; la carencia de mitosis ó de actos de regeneración en las células epiteliales que rodean dichos corpúsculos; la imposibilidad de hallar ele-

mentos de transición entre los caliciformes y los de chapa (1), y, en fin, la presencia en el protoplasma de aquellos elementos de finas granulaciones glandulares (fig. 155).

Epitelio vibrátil (fig. 152). — Reside en la porción respiratoria de las fosas nasales, en la laringe, tráquea y bronquios, en los dos tercios superiores de la mucosa uterina, en las trompas de Falopio, conductos deferentes, epidídimo, etc.

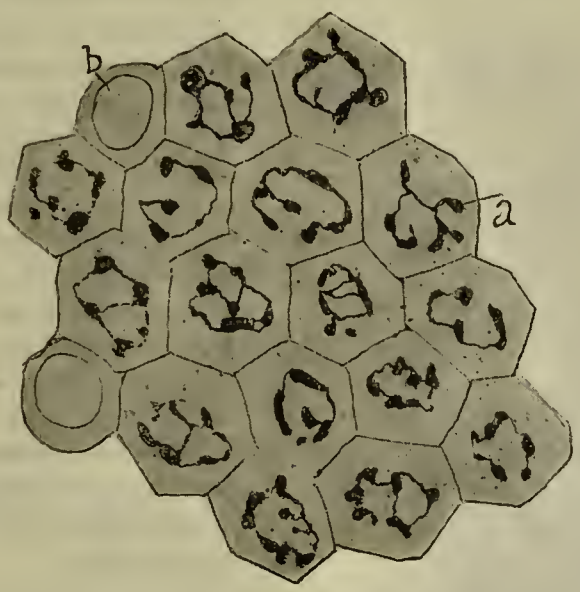

Fig. 151. — Corte horizontal de una vellosidad intestinal del conejo de Indias. — *a*, cordones intraprotoplásmicos; *b*, caliciforme.

Este epitelio adopta siempre la disposición mono-estratificada, y sus elementos, prismáticos y alargados, tocan por su cabo profundo el dermis, y exhiben por su cabo superficial un penacho de pestañas finísimas, completamente libres y dotadas de movimientos espontáneos, ya de vaivén, ya de látigo, ya de flexión y extensión, etc. Por debajo de las pestañas yace una cutícula granulosa (como la ya mencionada del epitelio con chapa), á cuyo través pasan las pestañas, pareciendo continuarse con los filamentos verticales del retículo protoplasmático. Esta conti-

(1) La ausencia de mitosis en las vellosidades intestinales la explica Bizzozero admitiendo que la regeneración tiene lugar al nivel de las glándulas de Lieberkühn, corriéndose las nuevas células de éstas hacia la superficie intestinal.

nuación no siempre es fácil de discernir y ha sido descrita por varios autores: Klein, Cajal, Engelmann, Nusbaum, Schiefferdecker, etc.

En las células ciliadas de los invertebrados, la continuación de las pestañas con los hilos del protoplasma es más fácil de establecer, según mostramos en la figura 152, *a,* tomada de M. Heidenhain. Repárese que los filamentos protoplásmicos conexionados con las *cilias* se disponen en haz, que va inferiormente convergiendo hacia un lado del núcleo, desvaneciéndose en las regiones inferiores del cuerpo celular. En la zona cortical del protoplasma, es decir, en el plano de implantación de las pestañas, las granulaciones antes referidas preséntanse con gran claridad, teñidas de negro por la hematoxilina ferruginosa *(a).* Estos granitos, designados *corpúsculos basales,* son estimados por Lenhossék, según dejamos apuntado más atrás, como verdaderos centrosomas.

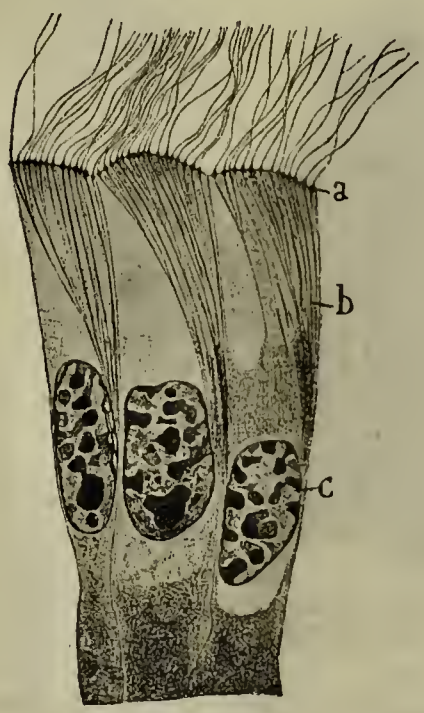

Fig. 152.— Células ciliadas de los conductos hepáticos del *Helix hortensis.* — *a,* granos basales situados en el pie de las pestañas; *b,* haz de fibras protoplásmicas continuadas con las pestañas; *c,* núcleo (según M. Heidenhain).

El espesor del epitelio vibrátil varía algo con los distintos órganos. Por ejemplo, en los bronquios pequeños, en las fosas nasales, la matriz, etc., las células son relativamente cortas y los núcleos constituyen una línea algo regular. Pero en la laringe y tráquea los elementos son mucho más largos, y los núcleos, en vez de formar una hilera, yacen en planos diversos, simulando una multiestratificación celular que ha sido tomada como realidad por muchos autores (fig. 152). Los cortes finos de la tráquea, así como la disociación, permiten ver que muchas células son tan altas como el espesor total del epitelio; si algunas parecen constituir un es-

trato profundo, es porque la expansión superficial guarnecida de pestañas es tan delgada, que suele pasar inadvertida. Entre el epitelio y el tejido conectivo reside una hilera discontinua de corpúsculos basales, en cuyos intersticios penetran expansiones de los elementos ciliados. Estos corpúsculos basales muestran á veces mitosis, comportándose como las *células germinales* del epitelio cutáneo.

Células pigmentarias.—Por fuera de los conos y bastoncitos de la retina reside una hilera de elementos alargados, prismáticos, cuyo protoplasma alberga cristales de melanina. Examinado este epitelio por su cara posterior ó periférica, exhibe un mosaico regular exagonal; mirado por su lado profundo ó an-

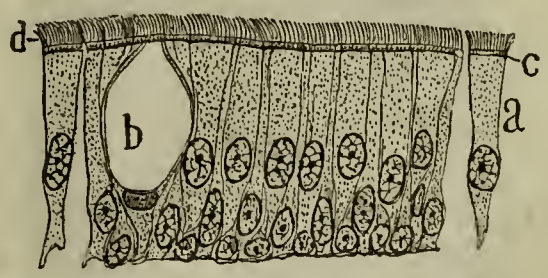

Fig. 153. — Epitelio vibrátil de la tráquea del gato. — *a*, célula vibrátil; *b*, banda granulosa situada bajo las pestañas; *d*, pestañas; *c*, célula caliciforme.

terior, se advierte que cada célula acaba mediante un penacho de expansiones protoplasmáticas, las cuales, insinuándose entre los conos y bastones, constituyen en torno de estos elementos un verdadero forro de melanina. El núcleo yace cerca del cabo externo de las células, en un paraje donde el protoplasma es macizo y poco rico en pigmento. Cuando tratemos de la retina insistiremos sobre estos corpúsculos, cuyo papel en el fenómeno de la visión debe ser muy importante.

Células neuro-epitélicas. — Los órganos de los sentidos contienen ciertas células epiteliales alargadas, prismáticas ó fusiformes que, por relacionarse íntimamente, y á favor de contactos múltiples con fibrillas nerviosas sensoriales, deben estimarse como los primeros anillos de la cadena de conducción, establecida entre el cerebro y el mundo exterior. Citemos, por vía de ejemplo, las *células ciliadas* del caracol, y de las crestas acús-

ticas, en contacto con su cabo profundo, más ó menos redondeado con filamentos terminales del nervio auditivo (Retzius, van Gehuchten), y las células fusiformes y prismáticas irregulares de los botones gustativos y de la mucosa lingual (Retzius, Lenhossék). Las pestañas que guarnecen la superficie periférica de estos elementos neuro-epitélicos no son vibrátiles, como no lo son tampoco los apéndices exteriores de los corpúsculos olfativos.

Epitelio de células cortas.—Reside de preferencia esta variedad epitelial en la porción secretora de las glándulas.

Sus células son cubóideas, granulosas, y se disponen, por lo común, en una sola capa. Por sus caras laterales se adhieren, á

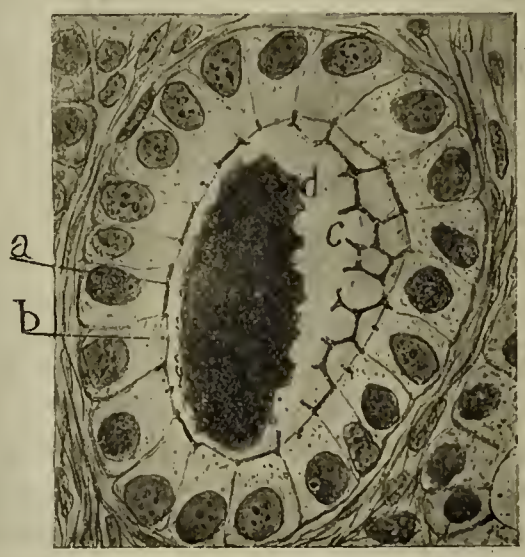

Fig. 154.—Corte de una vesícula del cuerpo tiroides del conejo (de una preparación de Heidenhain). Método de la hematoxilina ferruginosa.—*a*, banda de cierre; *b*, centrosoma de las células epiteliales cubóideas limitantes de cada vesícula.

favor de un cemento blando, desprovisto de hilos comunicantes, á los corpúsculos vecinos; su cara libre limita el contenido glandular y está desprovista de cutícula (hay excepciones, por ejemplo: las células de las glándulas de Lieberkühn, las de los tubos contorneados del riñón, etc., que están provistas de un cepillo de bastoncitos rígidos, que se desprenden durante el reposo de la glándula); su extremo profundo se apoya en una membrana basal, especie de condensación del tejido conectivo limítrofe, y

en su interior se albergan, además del núcleo, gotas de materia segregada y granulaciones de fermentos.

En la figura 154 mostramos este tipo de epitelio, tomado del cuerpo tiroides del conejo. Adviértase cómo la porción superficial del cemento que separa las células epitélicas se halla reforzado por una banda de cierre. En algunas células *(b)*, es visible el centrosoma, situado muy superficialmente.

Caracteres fisiológicos. — Los epitelios carecen de vasos, nutriéndose por imbibición de los jugos circulantes por el tejido conjuntivo limitrofe. La renovación de las células destruídas, por consecuencia de colisiones mecánicas ó de la actividad se-

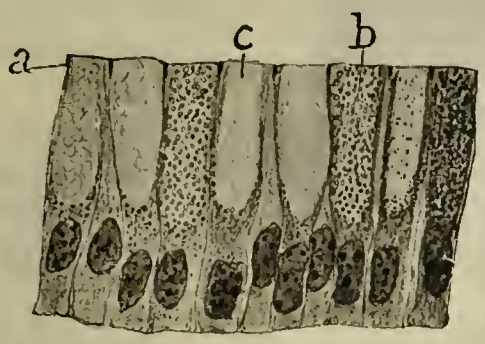

Fig. 155. — Epitelio caliciforme de la entrada de las glándulas pépsicas del perro. *a*, banda de cierre; *b*, célula con granulaciones de mucígeno; *c*, célula en que el mucígeno se ha convertido en mucina.

cretoria, se verifica mediante mitosis de los elementos inmediatos, ó, como ocurre en la piel, por proliferación de la hilera epitelial más profunda. La abundancia de mitosis en un determinado epitelio revela el tanto de destrucción celular que éste debe sufrir en el cumplimiento de sus funciones. Así se ha podido determinar por Bizzozero y sus discípulos que hay epitelios fijos, como son los del riñón, hígado, glándulas salivares, sudoriparas, etc., mientras que existen otros, como los de las glándulas pépsicas, las de Lieberkühn, sebáceas, etc., cuyos elementos están sujetos á rápida renovación.

De la *zona germinal* de los epitelios tegumentarios hemos hablado ya; ahora añadiremos solamente que también el epitelio de las mucosas suele ofrecer una hilera profunda continua ó discontinua, de *corpúsculos germinales* (células basales).

En la figura 156 mostramos un corte del epitelio traqueal, cuyos elementos basales ó germinales muestran fases mitósicas *(a)*.

Desde el punto de vista de su actividad funcional dominante, se han clasificado los epitelios en: *epitelios de protección* (piel y mucosas); *epitelios de secreción* (glándulas); *epitelios de absorción* (el de las vellosidades intestinales); *epitelios de diálisis* ó de filtración (el de los vasos y serosas); *epitelios sensoriales* ó neuro-epitelios (los yacentes en los órganos sensoriales, en donde sirven de colectores de las excitaciones acústica, luminosa, gustativa, etc.).

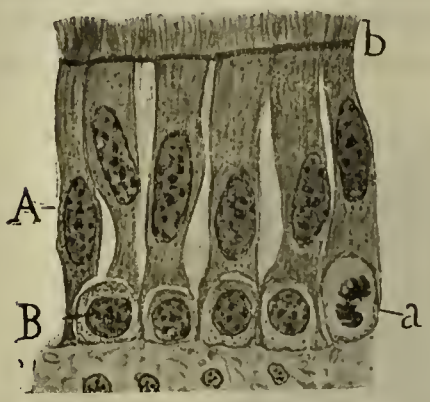

Fig. 156. — Epitelio de la tráquea del gato. — A, corpúsculo epitelial con pestañas; B, células germinales ó basales; *a*, mitosis en una célula basal.

Entre los epitelios de secreción procede contar el caliciforme, siquiera se halle entremezclado con epitelios de protección ó de absorción. Como mostramos en la figura 155, las células en cáliz afectan dos estados: fase de producción de granos glandulares ó esferas de *mucinógeno*, los cuales rellenan todo el hueco del cáliz y se colorean por la hematoxilina ferruginosa *(b)*, y fase de transformación de estos granos en mucina, pronta á derramarse por el orificio superficial de la célula *(c)*

Histogenesis. — Dimanan los epitelios de las tres hojas blastodérmicas: del *ectodermo* nace el epidermis cutáneo, el de la cavidad bucal, órganos genitales externos, conjuntiva, conducto auditivo externo, etc.; del *entodermo* deriva el epitelio intestinal y el de todas sus glándulas anejas, inclusive el pulmón y el hígado; del *mesodermo* provienen los endotelios, así como el epitelio de las glándulas sexuales.

Los epitelios experimentan pocas transformaciones en el curso de su evolución, conservando en gran parte su disposición embrionaria y el atributo privativo de los corpúsculos blasto-

dérmicos, á saber: la aptitud de proliferar incesantemente. Esto último sólo es valedero para ciertos epitelios, como ya más atrás dejamos expuesto.

No obstante, el epitelio pavimentoso estratificado pasa por varias fases evolutivas, que pueden estudiarse bien en los embriones de ave ó de mamífero. Al principio, la piel está representada por una sola capa de epitelio cubóideo, en curso de multiplicación. Mas desde las treinta á las cuarenta horas de la incubación en el pollo, la hilera epitelial se duplica á causa de que, en las nuevas mitosis ocurridas, el plano de partición celular se torna paralelo á la piel. Fórmanse así: una fila superficial de corpúsculos aplastados, más ó menos lenticulares, que conservan el núcleo, aunque no su capacidad de segmentación (fig. 157, *a*), y una hilera de células profundas *(los corpúsculos germinales)*, cubóideas, capaces de división, y entre las

Fig. 157. — Trozo de un corte de piel de un embrión de polio de las cincuenta horas de la incubación. — *a*, capa superficial de células aplanadas; *b*, capa germinal.

cuales aparecen espacios irregulares llenos de plasma. Ulteriormente se mostrarán entre ambas hileras celulares corpúsculos intermediarios, rudimento del futuro cuerpo de Malpigio. En fin, los elementos aplanados superficiales dispónense en varias líneas apretadas, al paso que pierden su núcleo y keratinizan su protoplasma. Como aparece en la fig. 156, *b*, desde muy temprano los contornos de los corpúsculos profundos se irregularizan, erizándose de apéndices que se ponen en contacto con los elementos vecinos. Verosímilmente, estos apéndices, multiplicados y regularizados en estados ulteriores de la evolución, representan el rudimento de los filamentos comunicantes.

Preparación de los epitelios. — Tres procedimientos técnicos pueden utilizarse con tal objeto: la disociación, los cortes seguidos de coloración y la impregnación argéntica.

A) *Disociación.* — Difícil de aplicar en los epitelios pavimentosos estratificados, proporciona excelentes resultados en los alargados, como el prismático del intestino, el vibrátil de los bronquios, etc.

El medio aislador preferente es el alcohol al tercio. En este líqui-

do se abandonarán á la maceración, por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, trozos de mucosa fresca provistos de su revestimiento epitelial. Al cabo de este tiempo, la capa epitelial aparecerá hinchada y de un aspecto gelatinoso transparente. De esta masa blanda y viscosa, que contiene células disociadas y separadas por un líquido como mucoso, se tomará una pequeña parte y se agitará en el centro de un porta-objetos con una gota de hematoxilina ó de picrocarminato.

La hematoxilina será filtrada antes de ser usada, y se tendrá cuidado de no colorar con ella sino breves minutos. El picrocarminato podrá actuar mucho más tiempo. En todo caso, se cubrirá la preparación con una laminilla y después se depositará en el borde del cubre-objetos una gota de glicerina. Por el lado opuesto á la glicerina, y en contacto con la materia colorante, es conveniente poner un poco de papel secante; de esta suerte, á medida que la materia tintórea desaparece, penetra el líquido. Para evitar que, á consecuencia de esta maniobra, sean arrastradas casi todas las células aisladas del preparado, se tendrá la precaución de no depositar en el borde del cubre-objetos más que la cantidad de vehículo conservador estrictamente precisa. Resta no más, para terminar la preparación, limpiar el exceso de glicerina que rezuma en torno del cubre-objetos y ejecutar la cementación definitiva.

En vez del alcohol al tercio, podrá usarse también como aislador el bicromato de potasa diluído (al 1 por 300). En este líquido se abandonarán los objetos, por dos ó tres días, al cabo de los cuales será fácil, raspando con un escalpelo la superficie epitelial, arrancar algunas células perfectamente aisladas para el estudio.

B) *Método de los cortes.* — Se aplica especialmente al estudio de los epitelios pavimentosos estratificados, siendo igualmente provechoso para los alargados.

Después de fijados los epitelios en alcohol, formol ó sublimado (véase *Técnica general),* se incluirán en celoidina, y los cortes finos se teñirán por cualquiera de los métodos generales ya descritos. Son recomendables: el método de Gieson, el procedimiento de Heidenhain con hematoxilina y hierro, las fórmulas de las anilinas básicas, etcétera.

C) *Impregnación argéntica.* — Es el medio casi exclusivamente usado para la preparación de los endotelios y de los epitelios delgados de muchas capas. Para los detalles del manual operatorio remitimos al lector á la *Técnica general.* Aquí recordaremos solamente: 1.° Que las piezas destinadas á impregnarse deben ser transparentes, por ejemplo: la córnea de la rana ó del conejo, el mesenterio, el epiplón mayor, el centro frénico, las aurículas, las delgadas venas, la vejiga, etc., de los pequeños mamíferos. 2.° Que no deben usarse so-

luciones más fuertes que al 1 por 500, so pena de ver con el tiempo ennegrecerse casi totalmente la pieza. 3.º Que no hay que abusar del lavado preliminar (antes de la impregnación) con agua destilada, pues las células se desprenden y los cementos pierden sus cloruros, por lo cual será conveniente, cuando la superficie epitelial no se ha manchado de sangre, prescindir de todo lavado previo. 4.º Que, finalmente, el nitrato no debe obrar sino breves instantes.

Existen epitelios susceptibles de examinarse en fresco, en plena vitalidad. Tales son: las células epiteliales de la boca y de las fosas nasales del hombre, y los epitelios de la córnea, de la lengua, esófago, vejiga urinaria, etc., de la rana y pequeños mamíferos. Para estudiar el epitelio bucal del hombre, basta rascar la superficie de la lengua con un escalpelo: en la saliva espesa de esta suerte recogida, hállanse multitud de células pavimentosas, cuyo núcleo es visible sin ayuda de reactivo alguno. En el moco procedente de la faringe se encuentran células todavía mejores, en cuanto á sus caracteres típicos. En ellas aparece fácilmente con los reactivos del núcleo la red cromática y la cubierta acromática.

La preparación de las células del esófago y lengua de la rana se se efectúa del propio modo. Unicamente cuando se deseen sorprender los movimientos vibrátiles convendrá cortar un pellizco de la mucosa lingual y observarlo doblado entre dos laminillas. En el borde doblado se advertirá un movimiento rápido de oscilación, revelable especialmente por las corrientes del líquido y la agitación de los hematíes y células desprendidas de las inmediaciones del epitelio.

La preparación de las bandas de cierre, así como de los centrosomas y granulaciones glandulares, exigirá la coloración de los cortes por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain. Como fijador se usará el sublimado asociado al ácido ósmico.

Para preparar los tubitos intraprotoplásmicos, se escogerán animales recién nacidos (conejo de Indias, perro, etc.). Trozos de mucosa se sumergirán por cuatro ó cinco días en solución de nitrato de plata al 3 por 100 (estufa á 30º) y se operará la reducción, previo lavado de las piezas (por algunos segundos) en la solución de ácido pirogálico (ácido pirogálico, 1; formol, 5; agua, 100). Un día de acción de este líquido es bastante. Después alcohol, celoidina, etc.

Los métodos de Golgi, Holmgren, etc., para la coloración de tales tubos intraprotoplásmicos, se expondrán al tratar de la técnica del sistema nervioso.

CAPÍTULO XI

TEJIDO DEL CRISTALINO

Definición. — Representa el tejido del cristalino una modalidad epitelial ectodérmica fuertemente transformada, cuyas células se han convertido en larguísimos prismas exagonales, transparentes, formados en gran parte de globulina y exentos de núcleo y protoplasma.

Distribución y caracteres físicos. — Este tejido reside exclusivamente en la lente cristalina de los vertebrados y de algunos pocos invertebrados; goza de perfecta transparencia, debida tanto al exacto ajuste de sus elementos constitutivos, como á la casi identidad de los índices de refracción del cemento y de los prismas; después de la muerte, y también bajo la acción de los reactivos coagulantes, la cocción, etc., su diafanidad desaparece, aumentando la consistencia.

No todo el cristalino ofrece la misma dureza; las zonas periféricas son blandas, particularmente después de la muerte, desagregándose y constituyendo lo que se llama *humor de Morgagni;* en tanto que la porción central es dura, resiste á la disociación en fresco y ha tomado el nombre de *núcleo del cristalino.*

Caracteres micrográficos. — Tres factores entran en la composición del cristalino: la membrana ó cápsula, los prismas y la capa epitelial.

Cápsula (fig. 158, A).—Así se llama la membrana hialina, espesa y resistente, que rodea y protege el cristalino, adhiriéndose íntimamente á sus células. El espesor de la cápsula es mayor por delante que por detrás (sin duda porque la lente exige mayor protección por delante, ordinario camino de los agentes traumáticos); así, en el hombre, la pared anterior de aquélla (lla-

mada también *cristaloides anterior*), tiene un espesor de 21 á 27 μ, mientras que la pared posterior no suele pasar de 8 á 10 μ. Carece la cápsula de estructura y permanece incolora en presencia de casi todos los reactivos tintóreos; su contorno es limpio, y sus fracturas acusan cierta estriación que recuerda la de las membranas basales y chapas epilépticas.

La pared anterior de la cápsula se continúa por su cara profunda, con la superficie de las células epiteliales, mientras que la pared posterior parece dependencia del cabo posterior de los prismas cristalinos, puesto que se adhiere íntimamente al contenido de éstos.

En suma, la cápsula cristalina parece representar el producto de secreción del epitelio y de los prismas, y puede identificarse con la membrana basal estriada yacente por debajo de la epidermis de la piel.

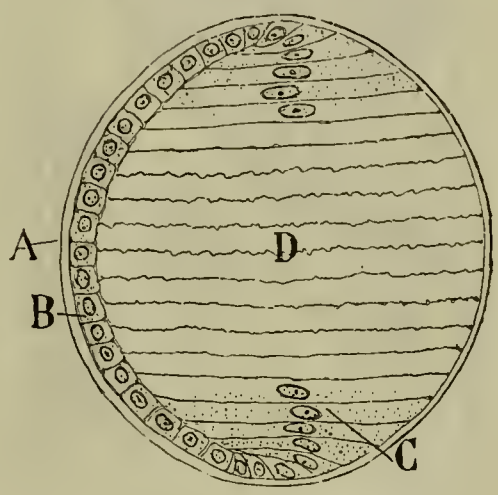

Fig. 158.—Esquema del cristalino de rana.—A, cápsula; B, capa epitelial; C, prismas cristalinos periféricos; D, prismas centrales.

Prismas ó células del cristalino (fig. 158, D). — Cuando se disocia el cristalino, ya en estado fresco, ya previa acción del ácido sulfúrico diluído, quedan en libertad unas fibras larguísimas, acintadas, exagonales, perfectamente diáfanas y unidas entre sí mediante un cemento transparente y poco resistente ante la tracción de las agujas. Están dirigidas de delante á atrás, acomodándose á las curvas del cristalino y alcanzando casi tanta longitud como un meridiano de éste. Su figura, de prismas exagonales, aparece muy claramente, examinando cortes transversales ó ecuatoriales de la lente; y se nota en éstos que cada prisma posee dos caras planas y anchas, paralelas entre sí y con la superficie general del órgano, y cuatro facetas estrechas, dos

en cada borde de los prismas, destinadas á unir á éstos en el sentido de la circunferencia. El espesor de los prismas, algo menor en los profundos que en los superficiales, llega en el hombre á 5 μ; su anchura pasa de 10 μ.

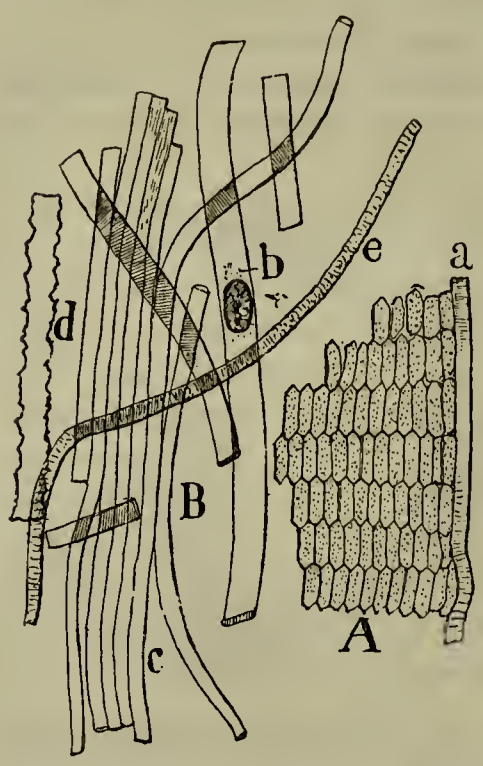

Fig. 159.—Prismas cristalinos del buey.—A, prismas cortados de través; B, prismas rotos y disociados; *a*, cápsulas del cristalino; *b*, manojo de prismas vistos de canto; *c*, prisma superficial visto de frente; *d*, fibra cristalina central; *e*, una de éstas examinada de canto.

La región del cristalino acomodada para la función de lente es la central, cuyas células han sufrido grandes transformaciones; la región periférica permanece en un estado menos alejado de la fase embrionaria.

Los prismas *cristalinos superficiales* son los más largos, y marchan curvilíneos desde la cara posterior del epitelio hasta la cristaloides posterior en donde se fijan; constan de membrana, aunque poco aparente, de un resto de protoplasma todavía granuloso y como reticulado, y de un núcleo alargado, á cuyo nivel la célula se halla algo ensanchada.

Los prismas *cristalinos centrales* son algo más cortos; no llegan, por lo menos en su mayor parte, á la superficie cristalina, sino que rematan en ciertos septos ó radios de cemento que cruzan el espesor del órgano; su estructura es más simple, pues carecen de núcleo, de membrana y protoplasma, quedando reducidos á una materia dura (globulina), diáfana, unida estrechamente á la de los elementos vecinos á beneficio de un cemento semisólido.

Otro carácter distintivo entre los prismas superficiales y pro-

fundos atañe á la disposición de los bordes: en los superficiales el contorno es liso, pero en los profundos, la arista lateral ó el ángulo agudo aparece dentellado, y sus apéndices se insinúan en huecos ó escotaduras de los prismas inmediatos. Semejantes dentellones se muestran extraordinariamente desenvueltos en los peces, y los engranajes resultantes recuerdan completamente las suturas craneales (fig. 161).

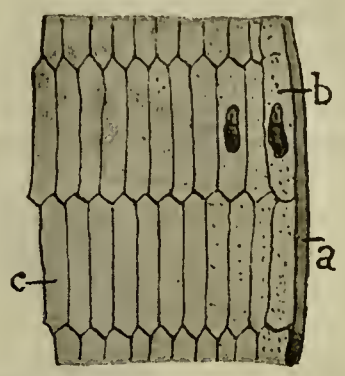

Fig. 160. — Fragmento de un corte ecuatorial de cristalino de conejo. *a*, cápsula; *b*, prismas superficiales con núcleo; *c*, corte transversal de prismas más profundos.

Capa epitelial. — Detrás de la pared anterior de la cápsula y delante de los extremos frontales de los prismas, yace un plano de corpúsculos epiteliales cuboides, algo aplanados de delante á atrás, perfectamente transparentes y de contorno poligonal (fig. 158, B). El cuerpo de estas células varía algo en dimensión, y exhibe un núcleo elipsoide, á menudo excéntrico, rodeado de protoplasma finamente granuloso. Adhiérense estas células por delante á la cápsula ó cristaloides anterior que representa, como ya dijimos, un producto de secreción de las mismas, y están flojamente unidas posteriormente á los cabos anteriores de los prismas superficiales. En el ecuador del cristalino, las células epiteliales más periféricas se alargan sucesivamente, cambian de dirección y se continúan por suaves transiciones con los prismas cristalinos (fig. 158, C). Semejante disposición se advierte muy claramente en el embrión y mamíferos recién nacidos.

Fig. 161. — Trozo de un prisma cristalino central de un pez.

Histogenesis. — El cristalino representa una producción secundaria del epidermis cutáneo. Hacia la época en que aparecen las vesículas oculares (expansiones del cerebro anterior destinadas á engendrar la retina), el epidermis facial contiguo se espesa, y hundiéndose ulterior-

mente, engendra una bolsita epitelial á manera de rudimento de glándula, la cual, después de deprimir la vesícula ocular, rompe el pediculo que la retenía á la piel (fig. 162, A).

La bolsa epidérmica así engendrada, consta de una hilera celular, cuyas metamorfosis ulteriores varían en cada polo del órgano: las células de la pared ó polo anterior del cristalino se aplanan ligeramente, segregan la cristaloides anterior y con-

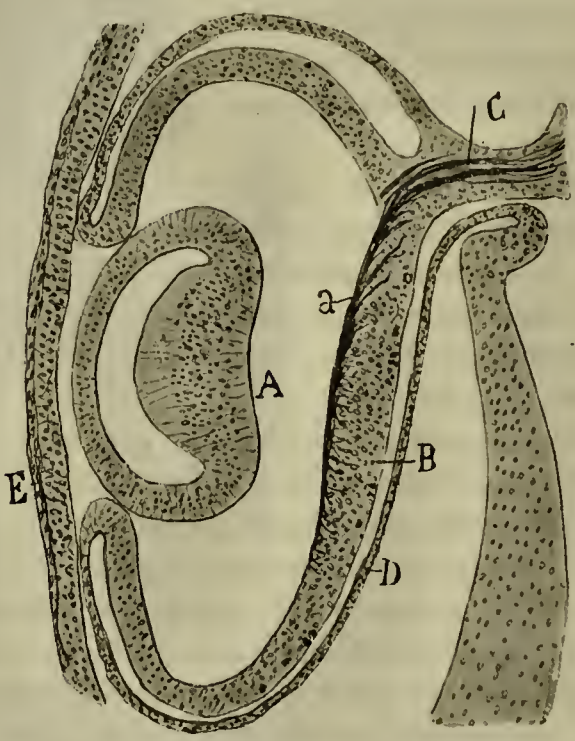

Fig. 162. — Corte de la vesícula ocular y del cristalino de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. — A, cristalino; B, retina; D, capa pigmentaria de ésta; E, epidermis del cual ha desaparecido el pedículo que le juntaba al cristalino.

servarán indefinidamente su vitalidad; las células de la pared posterior se alargan de delante atrás, engendrando los prismas cristalinos y constituyendo casi toda la masa de la lente (A). Al principio, todos los prismas poseen núcleo situado, poco más ó menos, en su región central; pero más adelante, y en una época muy anterior al nacimiento, las células centrales se hialinizan, pierden sus núcleos, tranformándose en meras fibras desprovistas de vitalidad, y comparables, por muchos aspectos, á los hematíes adultos.

Preparación del cristalino. — 1.° *Fibras cristalinas.* — a) *Disociación.* — El mejor procedimiento de estudio de las fibras cristalinas, es la disociación mecánica, que podrá efectuarse en cristalinos frescos, desgarrando sus capas superficiales con las agujas en una gota de verde metileno ó de picrocarminato. Aplicando el verde de metileno, los núcleos y nucleolos de las fibras aparecerán correctamente teñidos y revelarán una textura fibrilar. Pero estos preparados, excelentes para el estudio, no pueden conservarse bien; así que en la mayor parte de los casos deberemos elegir otros métodos. Uno de los mejores consiste en someter el cristalino á la acción de agentes que obran, á la vez que fijando, facilitando la disociación, por ejemplo: el ácido sulfúrico, el crómico, el líquido de Müller, etc. Nosotros preferimos el ácido sulfúrico diluído, ya aconsejado por Becker. La cantidad de ácido no debe pasar de 4 ó 5 gotas, por 4 ó 6 gramos de agua destilada. Trozos frescos de cristalino se abandonarán en este licor por espacio de doce á cuarenta y ocho horas. La maceración en el ácido sulfúrico presta á las fibras mayor opacidad, y actúa disolviendo el cemento de unión, con lo que la disociación de los prismas se verifica facilísimamente, á poco que nos ayudemos de las agujas. Terminada la disociación, se lava la preparación con agua destilada, para arrastrar el exceso de ácido, se tiñe por la hematoxilina ó el carmín y se monta en glicerina. Este procedimiento conserva muy bien la forma y estructura de las fibras superficiales.

b) *Cortes.* — A fin de completar el estudio de los prismas, es muy útil la práctica de secciones de la lente en dos sentidos perpendiculares, el meridiano y el ecuatorial. En los cortes ecuatoriales se percibirán claramente los exágonos ó secciones transversales de las fibras, apreciándose la verdadera forma y espesor de éstas, y en los antero-posteriores ó meridianos veremos las fibras á lo largo con sus núcleos, y las relaciones de los cabos de éstas con la cápsula cristalina. Los cortes deben hacerse los más finos posibles (de 6 á 10 μ), para lo cual convendrá dar al cristalino, ya indurado en el líquido de Müller ó alcohol, un suplemento de consistencia por medio del alcohol y la celoidina. No es de recomendar al efecto la inclusión en parafina; casi siempre, la dureza obtenida es demasiada y corren riesgo de mellarse las navajas. El endurecimiento en el ácido ósmico y subsiguientemente en el alcohol, fija muy bien las fibras, pero les presta tanta homogeneidad, que apenas son visibles sus contornos.

2.° *Epitelio.* — Puede revelarse por la impregnación argéntica. Para ello, no hay más que sumergir un cristalino pequeño (de rana ó ratón) por pocos minutos en un soluto de nitrato de plata al 1 por 300. Lavado y expuesto á la luz en una gota de glicerina, mostrará en su cara anterior tres cosas: 1.°, unas líneas negras que limitan espacios poligonales bastante extensos, correspondientes al cemento inter-

epitelial; 2.°, líneas morenas granulosas, paralelas y convergentes á las estrellas de cemento, correspondientes al cemento de unión entre los prismas cristalinos superficiales (esta impregnación se ve mejor en la cara posterior del cristalino); 3.°, ciertas estrellas de cemento representadas por *tractus* gruesos, morenos y granulosos, y cuyo foco reside en el centro de las caras del cristalino. En la rana, esta radiación queda reducida á una línea; pero en los mamíferos, y sobre todo en el hombre, nótanse numerosos radios de cemento divididos y subdivididos hacia el ecuador de la lente.

Un estudio más completo del epitelio anterior, exige preparaciones de la cápsula, en que las células, convenientemente teñidas, sean vistas de frente. Con este fin, comenzaremos por indurar un cristalino humano en bicromato de potasa ó ácido crómico. A los pocos días de maceración, la cristaloides anterior se despegará fácilmente del tejido cristalino, arrastrando consigo el epitelio. Un pedazo de la cápsula extendido en porta-objetos, teñido con hematoxilina, aclarado con el ácido acético diluído y conservado en glicerina, mostrará suficientemente claras las células con sus núcleos, así como las relaciones de éstos con la cápsula. Sin embargo, este último punto, así como las conexiones del epitelio con los prismas, podrán estudiarse mucho mejor en delgados cortes meridianos de la lente. Un análisis bastante detallado de estas células y núcleos, puede practicarse también en fresco, tratando por el verde de metileno ácido un cristalino entero de rana. A través de la cápsula, y á medianos aumentos, se diseñarán admirablemente las células y los núcleos, coloreados de verde claro; se advertirá que son excéntricos en posición y que las células son polígonos irregulares.

CAPÍTULO XII

SANGRE Y LINFA

Definición. — La sangre es un tejido caracterizado por su fluidez, color rojo intenso y, sobre todo, por constar de numerosos corpúsculos discoides amarillentos, flotantes en una materia intercelular transparente y espontáneamente coagulable.

Caracteres físicos y distribución. — El tejido sanguíneo yace encerrado en el sistema vascular, y es un líquido espeso, de color rojo claro en las arterias, de color rojo obscuro en las venas, opaco por el gran número de corpúsculos que tiene en suspensión, de un olor *sui generis* y de una densidad de 1'055; su temperatura alcanza unos 38° centígrados y su reacción es alcalina. La cantidad total de sangre es algo variable, pero puede fijarse para el hombre adulto en unos cinco ó seis litros. Varía poco la composición anatómica de este líquido en los diversos órganos; en cambio, su composición química experimenta modificaciones cualitativas y cuantitativas según las localidades orgánicas que recorre.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio una gota de sangre, aparecen á nuestra vista tres clases de corpúsculos: los *hematíes* ó glóbulos rojos, los *leucocitos* ó glóbulos blancos, y las *plaquetas* (hematoblastos de Hayem).

Hematíes (fig. 163, A).—Son éstos los elementos más abundantes y á los que la sangre debe su color y muchas de sus propiedades. Poseen pequeña talla, pues que miden en el hombre 7 á 8 μ de diámetro por 2'5 de grueso, y afectan forma de lente bicóncava de contorno circular, lo que se aprecia bien examinando los hematíes de canto; vistos de frente, aparecen circulares y más claros (efecto de la mayor delgadez) en el centro que en su periferia; su color es amarillo-verdoso claro en los hematíes aislados, rosáceo anaranjado cuando se superponen varios de ellos, y rojo intenso en los fuertes acúmulos globulares. Carecen de

núcleo y de todo rastro de estructura, exhibiendo un contorno correcto y un contenido absolutamente homogéneo. El número de hematíes es enorme; en un milímetro cúbico se cuentan de cuatro y medio á cinco millones.

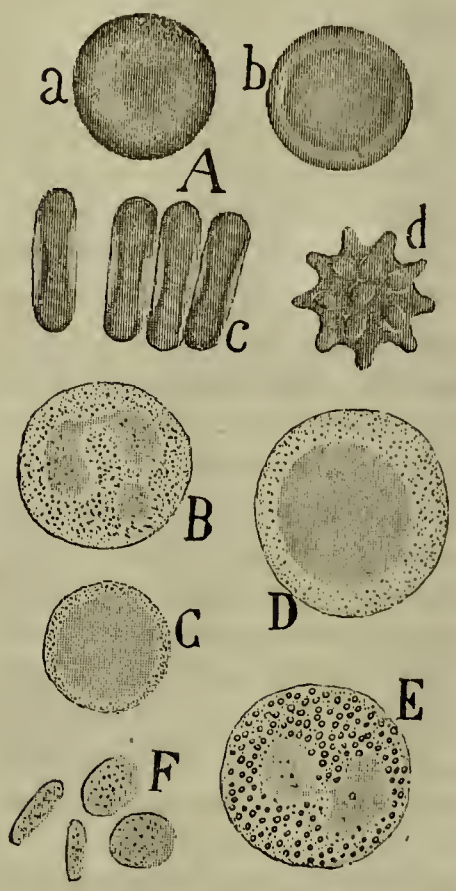

Fig. 163. — Sangre humana examinada en fresco á grandes aumentos. — A, hematíes; B, leucocito grande con granos neutrófilos; C, linfocito ó leucocito pequeño y de núcleo esférico; D, leucocito grande de núcleo esférico y mucho protoplasma (mielocitos de ciertos autores); E, leucocito con granos eosinófilos; F, plaquetas; *a*, hematíe visto de frente y enfocado en su plano superior; *b*, el mismo, enfocado algo más abajo; *c*, hematíes vistos de perfil; *d*, hematíe alterado.

Son los hematíes formas sumamente alterables, que sólo se conservan incólumes á condición de que el plasma no experimente variación en sus proporciones de agua, sales y albuminoides. Una ligera evaporación, como la que ocurre en una gota de sangre puesta en porta-objetos y cubierta por una laminilla, suscita en los hematíes las siguientes transformaciones: desde luego los discos se achican y su contorno se eriza de dentellones cónicos; ulteriormente, el hematíe adquiere forma esférica y aparece por todas partes cubierto de expansiones cortas que le dan parecido con la llamada rosa de los vientos (fig. 163, *d*).

El agua los palidece notablemente, robándoles la hemoglobina y reduciéndolos á esferas blancas casi invisibles (estroma).

Las soluciones salinas de proporción inferior á la concentración salina del plasma, obran como el agua; pero si su densidad es superior, actúan como la evaporación, retrayendo los hematíes

y erizándolos de espinas. El éter y el cloroformo prestan á los hematíes forma esférica y provocan la solución de la hemoglobina en el plasma. En cambio, una mezcla de éter y alcohol resulta un buen fijador del hematíe.

Los ácidos minerales, el alcohol, el bicromato de potasa, etc., alteran los hematíes, coagulando su contenido y tornándolo granuloso y á veces reticulado. Por último, los ácidos diluídos revelan en los hematíes una finísima cubierta, que ha sido puesta en duda por muchos autores.

En suma; los glóbulos rojos de los mamíferos representan células muertas que, merced á una diferenciación química, perdieron núcleo y protoplasma adquiriendo en su lugar un principio inmediato, la hemoglobina, al que deben su particular actividad funcional y el importantísimo papel que desempeñan en la economía viviente.

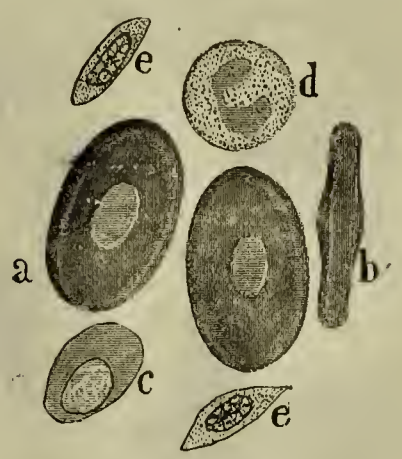

Fig. 164. — Glóbulos de la sangre de rana. Examen en fresco. — *a*, hematíes vistos de frente; *b*, hematíes de perfil; *d*, leucocito; *c*, hematíe joven; *e*, plaquetas.

Hematíes en los vertebrados inferiores (fig. 164, *a*). — Los glóbulos rojos de las aves, reptiles, batracios y peces, discrepan de los de los mamíferos por los siguientes caracteres: 1.°, afectan una forma de disco elíptico ú oval (exceptúanse los ciclostomos, cuyos hematíes son circulares); 2.°, albergar un núcleo elíptico central algo aplanado y rico en cromatina; 3.°, ofrecen una talla considerable; 4.°, vistos de perfil, no aparecen bicóncavos, sino biconvexos, á consecuencia del abultamiento central producido por el núcleo (fig. 164, *b*). Desde el punto de vista de las dimensiones, son notables los hematíes de los batracios, y singularmente los de los urodelos. Por ejemplo: en la rana, el diámetro mayor de los hematíes es de unas 22 μ de milímetro; en la salamandra maculosa, de 40 μ; en el gallipato, de 35 μ, y en el proteo, de 56 á 60 μ.

Se sigue de lo expuesto, que los hematíes de los vertebrados inferiores conservan el tipo embrionario, reproduciendo la forma primi-

tiva de los hematíes de los mamíferos. Parecidos ejemplos nos ofrecen también otros tejidos, como tendremos ocasión de observar más adelante.

Leucocitos (fig. 163, B, C, D). — Estos glóbulos, llamados loucocitos (de λευκός, blanco) por carecer de color, son células perfectas, de forma esférica y de un diámetro oscilante entre 9 y 12 μ. Su número en el milímetro cúbico es de 5.000 á 6.000, guardando con los hematíes la proporción de 1 por 250 ó por 300.

Un buen objetivo denuncia en los leucocitos frescos, pero mucho mejor en los tratados por el agua acetificada ó por un color básico de anilina, tres partes bien diferentes: el protoplasma, el núcleo y la membrana.

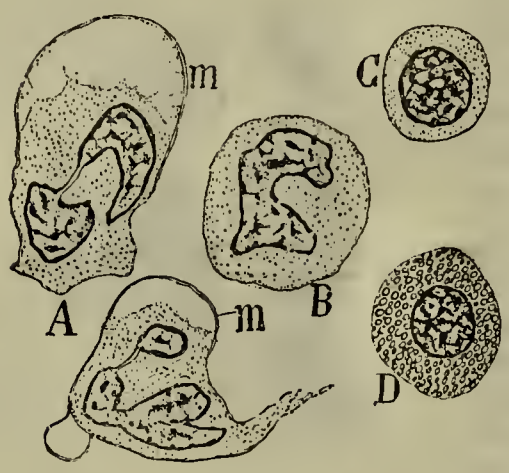

Fig. 165. — Leucocitos de la sangre de rana, tratados por la solución acetificada de verde de metileno.—*m*, membrana; A y B, leucocitos grandes; C, leucocito pequeño ó linfocito.

El *protoplasma* es de aspecto granuloso y ofrece señales de reticulación. En los leucocitos vivos y en plena contracción amiboide, apréciase una ó más vacuolas circulares. El *núcleo* se distingue por su forma frecuentemente irregularizada por gibas y expansiones lobuladas y por la circunstancia de que la cromática, escasa en el retículo central, se condensa en espesa membrana nuclear (*cubierta cromática*). Por último, en torno del protoplasma el agua y el ácido acético diluído revelan una fina *membrana* que tiende á levantarse en gibas ó vacuolas periféricas (fig. 165, *m*).

Relativamente á su tamaño y estructura, pueden distinguirse varias especies de leucocitos, sobre todo: una variedad de gran talla y de núcleo lobulado (fig. 165, A, B); y otra de pequeño volumen, escaso protoplasma y núcleo esférico (fig. 163, C, y 165).

Los trabajos de Ehrlich y de sus discípulos han permitido individualizar las siguientes clases de leucocitos, cuyo origen y actividad fisiológica acaso sean muy diversos.

1.° *Linfocitos* ó sean pequeñas células (de 8 á 9 μ) provistas de un núcleo esférico, rico en cromatina y rodeado por escasa cantidad de protoplasma (fig. 165, C). Según Ehrlich, engéndranse estos corpúsculos en los ganglios linfáticos; forman escasamente el 25 por 100 de los leucocitos sanguíneos (Weichelbaum).

2.° *Leucocitos* grandes de protoplasma abundante, que alberga un núcleo grueso, esférico ú oval, pero de red cromática floja. Son también poco numerosos (figs. 163, D, y 166, B). Algunos autores designan estas células *leucocitos mononucleados,* para distinguirlos de los de núcleo lobulado, de apariencia plurinucleada. Representan, según Courmont, el 11 por 100 de todos los leucocitos. Los tipos leucocíticos 1 y 2 ofrecen la particularidad de carecer de granulaciones, razón por la cual Dœnys y otros autores los designan con el nombre de *hialinos,* oponiéndolos á los tipos siguientes, calificados de *granulosos.*

3.° *Leucocitos* algo menores que estos últimos y provistos ya de un núcleo alargado en forma de riñón, ya de un núcleo cuyo contorno está irregularizado por lobulillos más ó menos numerosos, unidos de ordinario por estrechos itsmos (figs. 165 y 163, B). Algunos de estos leucocitos pueden alojar dos ó más núcleos (1). Esta clase de leucocitos ofrece comunmente finísimas granulaciones neutrófilas y es el grupo más numeroso de todos los glóbulos blancos (el 60 ó 70 por 100 de la totalidad); goza también más que ninguno de la capacidad amiboide ó emigratoria, así como de virtudes fagocíticas (fig. 166, D). A esta variedad de fagocitos incumbe principalmente el importante oficio de limpiar la sangre é intersticios orgánicos de toda partícula extraña, bien provenga del exterior, bien se origine de la desagregación de células de tejido. Según Metchnikoff, la forma arrosariada y como lobulada del núcleo respondería al propósito de facilitar el paso de éste, durante el proceso de la extravasación, á través de los angostos resquicios inter-endoteliales. La cuna de estas células estaría en la médula ósea (Ehrlich).

4.° *Leucocitos de transición ó intermediarios.*—Así califican algunos histólogos ciertas células blancas semejantes á la especie precedente, pero cuyo núcleo presenta transiciones de forma con el de la variedad neutrófila que acabamos de exponer. Su número, según Courmont, sería de 0'5 á 2 por 100 (fig. 166, C).

(1) Ehrlich distingue en esta variedad dos especies (con núcleo único, pero giboso, y con núcleo múltiple); mas como en realidad estas dos especies (3 y 4 de Ehrlich) no representan otra cosa que fase de transformación nuclear de un mismo tipo celular, nosotros hacemos una de ambas.

5.° *Leucocitos con granulaciones gruesas.* — El protoplasma de algunos leucocitos del tipo tercero encierra verdaderos productos de secreción del protoplasma, colorables por las anilinas. Fundándose en las especiales apetencias colorantes de estos gránulos, Ehrlich ha llegado á distinguir hasta siete variedades de leucocitos. Nosotros indicaremos aquí solamente las dos especies granuladas más comunes, á saber: a) *eosinófilos* (fig. 166, E), de núcleo con gibosidades, cuyo protoplasma alberga granos gruesos, esféricos, parecidos á micrococos, y colorables por la eosina y anilinas ácidas (granulaciones acidófilas): su número no llega al 1 ó 3 por 100; b) *leucocitos basiófilos* polinucleares ó con núcleo abollado, cuyo protoplasma aloja granos finos colorables por las anilinas básicas (granitos basiófilos). Esta especie de leucocitos es más frecuente en otros vertebrados que en el hombre, en el cual no llegan al 0'5 por 100. Ase-

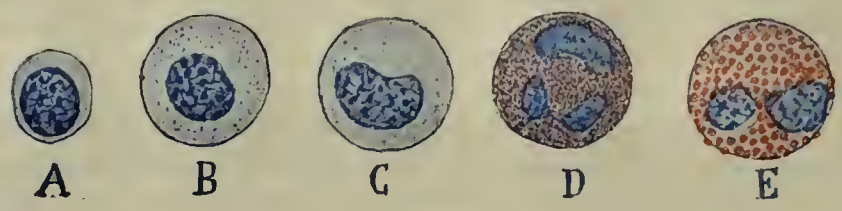

Fig. 166. — Diversos tipos de leucocitos de la sangre humana. — A, linfocito; B, leucocito mononucleado; C, leucocito intermediario; D, leucocito neutrófilo; E, leucocito eosinófilo.

méjanse mucho á las células cebadas del tejido conjuntivo, con quienes comparten la propiedad metacromática de los gránulos basiófilos.

Los leucocitos poseen, según dejamos dicho en otro capítulo, un centrosoma. En sus fases embrionarias contienen también un aparato de Golgi rudimentario, según ha demostrado Fañanás (1912) en los embriones de pollo.

Con pequeñas diferencias, las precedentes especies de leucocitos hállanse en todos los vertebrados superiores. Algunas de dichas variedades encuéntranse hasta en los invertebrados. Así, en el cangrejo muéstranse dos especies leucocíticas: 1.ª, *glóbulos blancos, ásperamente granugientos,* con gruesas esferas eosinófilas; y 2.ª, *leucocitos de protoplasma finamente granulado* y granitos neutrófilos. Ambos tipos corresponden á las especies 3.ª y 5.ª de los leucocitos del hombre.

Las dos citadas categorías de leucocitos, que deben considerarse como las formas primordiales de fagocitos errantes del líquido nutritivo, aparecen también en el plasma intersticial del *lumbricus* y otros invertebrados.

Plaquetas (fig. 163, F). —En la sangre viva pululan también unos diminutos corpúsculos, señalados hace tiempo por Zimerman, mejor descritos por Hayem, quien reconoció su existencia en casi todos los vertebrados, y cuya historia ha sido completada modernamente por Bizzozero, Eberth y otros. Por alusión á su propiedad de formar trombos ó tapones vasculares, Dekhuyzen y Giglio-Tos les conocen con el nombre de *trombocitos*.

Las *plaquetas* (designación que les ha sido dada por Bizzozero) son más numerosas que los leucocitos; su relación con los hematíes es de 1 á 20 y en un milímetro cúbico de sangre se encuentran unas 245.000. El diámetro de estos glóbulos oscila entre 3 y 5 μ; su forma es la de un disco circular ú oval ya plano, ya biconvexo; carecen de núcleo y de hemoglobina, pareciendo formados de una masa transparente, blanda y finamente granulosa. Los ácidos diluídos revelan en torno de esta masa una sutilísima cubierta (fig. 167, D).

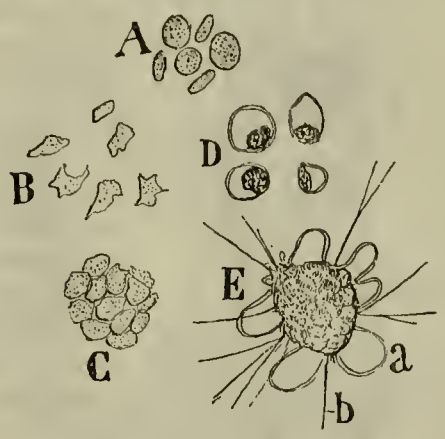

Fig. 167. —Plaquetas de la sangre humana. — A, plaquetas normales; B, alteradas y tales como se ven en una gota de sangre recién extraída; C, reunidas en montón; D, mostrando una membrana tras la acción del ácido acético diluído; E, plaquetas de la sangre coagulada en torno de las cuales se separan, bajo la acción del agua acetificada, finas membranas *(a)*; *b*, hilo fibrinoso.

Gozan las plaquetas de la curiosa propiedad de deformarse rápidamente en cuanto salen de los vasos, atrayéndose unas á otras, y construyendo unos acúmulos irregulares de dimensión variable, que se han llamado *zoogleas de plaquetas* (fig. 167, C). Tan súbita es esta transformación, que algunos segundos después de extraída una gota de sangre, ya no se descubre ninguna plaqueta íntegra, sino granulaciones irregulares ó acúmulos deformes; no obstante, se logra impedir, durante algunas horas, la conglutinación de estos corpúsculos, mezclando la sangre viva con cierta cantidad de líquido sódico-metílico de Bizzozero (agua, 100; sal, 0'75; violeta de metilo á saturación).

Plaquetas de los vertebrados inferiores. — A la manera de lo que acontece con los hematíes, las plaquetas de las aves, reptiles, batracios y peces, son de talla considerable, afectan figura de discos elípticos, generalmente biconvexos, y están provistas de un núcleo alargado rodeado de escasa cantidad de plotoplasma granuloso (fig. 164, *e)*. En la rana y los urodelos, este protoplasma, como ya hemos demostrado hace años, es capaz de movimientos amiboides y de englobar cuerpos extraños. En la figura 172 mostramos varias plaquetas de la sangre de rana que habían engullido un microbio *(el staphilococcus pyogenes aureus)* previamente inyectado en el saco linfático dorsal. Por lo demás, también en los batracios gozan las plaquetas de la propiedad de transformarse y conglutinarse, sirviendo sus zoogleas, en la sangre extravasada, de focos de la red de fibrina coagulada.

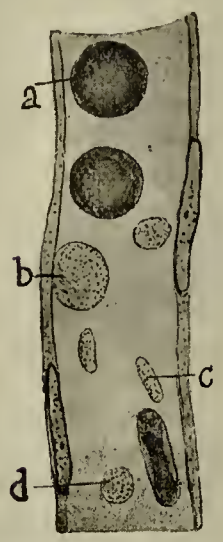

Fig. 168.—Elementos de la sangre viva circulante en un capilar del mesenterio del conejo de Indias narcotizado. *a*, hematíe; *b*, leucocitos; *c* plaqueta de canto; *d*, plaqueta de frente.

En los vermes, moluscos, equinodermos y crustáceos, se han encontrado en el plasma nutritivo células amiboides semejantes á plaquetas, ya que son capaces de conglutinarse en plasmodias y de engendrar masas granulosas que recuerdan el trombus.

Caracteres químicos de la sangre. — Es preciso distinguir en este líquido la composición química de los hematíes y la del plasma.

Composición de los hematíes. — Constan estas células de dos substancias íntimamente mezcladas: una incolora é insoluble llamada *estroma* ó *globulina;* otra coloreada y soluble, la *hemoglobina* (oxigenada en la sangre arterial, reducida en la venosa). La cantidad de materia colorante de los hematíes humanos alcanza, según Hoppe-Seyler, al 40'4 por 100 de peso de los mismos. El *agua* es relativamente escasa, pues según dicho autor, sólo llega en el hombre al 57'7 por 100. El *estroma* ó globulina engloba, además, cierta cantidad de *colesterina, lecitina* y *sales* (fosfatos y cloruros á base de potasa, etc.) y una *nucleo-albúmina* (Arthus).

La importancia fisiológica de la materia colorante de la sangre exige que le consagremos algunos párrafos.

Hemoglobina y sus derivados. — La hemoglobina es un albuminoide cristalizable, de composición compleja, puesto que entran en su molécula el carbono, el hidrógeno, el oxígeno, el nitrógeno y el hierro. Según modernas investigaciones, la hemoglobina representa una *proteína* complicada, resultante de la combinación de un principio albuminoide, la *globina,* con el *hemocromógeno*, cuerpo ferruginoso cuya fórmula es: $C^{32}H^{32}FeO^{2}Az^{4}$. En presencia del aire, la molécula de hemoglobina fija otra molécula de oxígeno. Llegados los hematíes á los tejidos, las oxidasas de éstos prívanles de dicho gas; en su lugar, la hemoglobulina fija CO^{2}, en tan floja combinación, que se desprende en cuanto los hematíes arriban al pulmón.

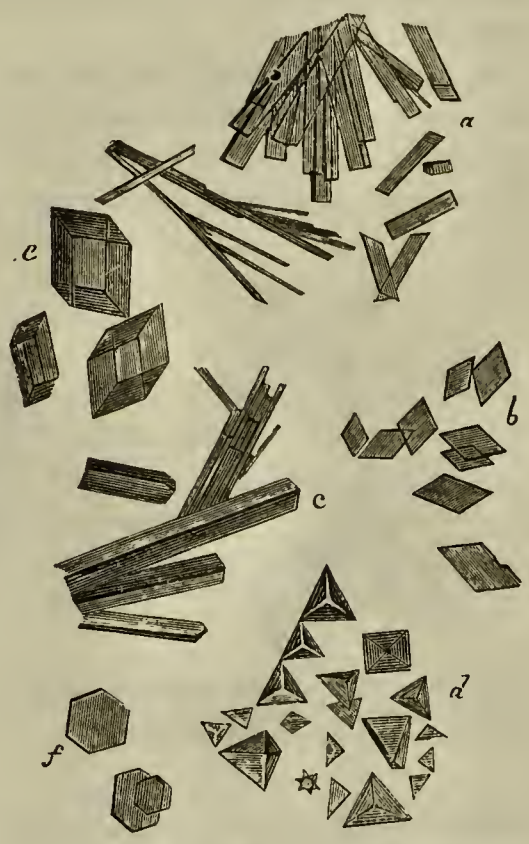

Fig. 169. — Cristales de hemoglobina. — *a* y *b*, cristales de la sangre venosa del hombre; *c*, cristales de la sangre del gato; *d*, del conejillo de Indias; *e*, del castor; *f*, de la ardilla (según Frey).

No cristaliza la hemoglobina con igual facilidad ni en igual forma geométrica en todos los vertebrados. Así, en el hombre cristaliza en láminas y prismas romboidales, en el conejo de Indias, en tetraedros y en la ardilla, en láminas exagonales. La hemoglobina es soluble en agua, insoluble en el cloroformo, éter y alcohol. Vista al espectroscopio, exhibe dos bandas de absorción entre la raya *D* y *E* (oxihemoglobina); cuando esta substancia pierde el oxígeno *(hemoglobina reducida),* muestra con dicho instrumento una sola banda obscura, situada entre las rayas *D* y *E (banda de reducción de Stockes).*

Derivados de la hemoglobina. — a) *Hematina* ($C^{43}H^{52}N^4FeO^4$). — Es una materia morena, incristalizable, que se considera como resultado del desdoblamiento de la oxihemoglobina. Insoluble en agua, alcohol y éter, goza de solubilidad en los álcalis y en el alcohol mezclado con ácido sulfúrico. Hay varias especies de hematina: la *hematina ácida,* la *alcalina,* la *reducida,* etc.

b) *Hemina ó clorhidrato de hematina* ($C^{34}H^{34}ClN^4F^3$). — Es otro derivado de la hemoglobina, que se presenta al microscopio bajo la forma de cristales finos color café obscuro, insolubles en agua y alcohol, solubles en los álcalis y en ácido nítrico

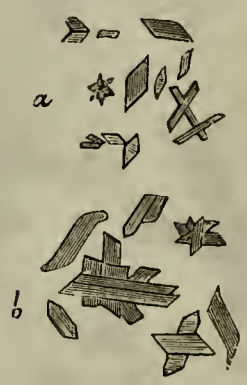

Fig. 170. — Cristales de hemina ó clorhidrato de hematina.—*a*, del hombre; *b*, del cordero (Landois).

Fig. 171. — Cristales de hematoidina (Frey).

y sulfúrico hirviente. Dichos cristales, que son dicróicos y birefrigentes, afectan la figura de láminas romboédricas alargadas, á menudo dispuestas en estrellas. Se obtiene la hemina diluyendo una gota de sangre ó una costra sanguínea seca, á favor del ácido acético, y en presencia de una pequeña cantidad (fig. 170).

c) *Hematoidina* ($C^{17}H^{18}N^2O^5$). — Cuando la sangre se extravasa y permanece secuestrada largo tiempo en el tejido conectivo, fórmanse, á expensas de la hemoglobina, unos cristales de color rojo naranja, de forma de tablas romboidales, solubles en cloroformo y sulfuro de carbono, pero insolubles en agua. La hematoidina carece de hierro. Muchos autores la identifican con la bilirubina (fig. 171).

Composición del plasma. — El plasma sanguíneo corresponde á la materia intercelular de otros tejidos; es perfectamente líquido, transparente y lleva en disolución un gran número de principios inmediatos y de sales; lo que se comprende bien recordando que el *plasma sanguinis* es el vehículo de todas las materias nutritivas y el colector de todas las substancias desasimiladas.

Según Hammarsten, los albuminoides del plasma hállanse en las proporciones siguientes:

Fibrina ó fibrinógena	6
Globulina ó fibrinoplástica	38
Serum-albúmina	24
Agua	917

Por lo demás, estas proporciones varían para cada autor. Por ejemplo, Arthus encuentra en la sangre humana: *serum-albúmina*, 45; *serum-globulina*, 30; *fibrinógena*, 4. Cita además la existencia de un *núcleo-proteído*.

Las proporciones de todas las materias del plasma de la sangre humana nos las da Hoppe-Seyler en la tabla siguiente:

Agua	914
Albuminoides	67
Lecitina	2
Colesterina	0'654
Grasa	3
Extracto alcohólico	1
— acuoso	2
Sales	7

Opiniones relativas á la coagulación de la sangre. — Uno de los albuminoides más importantes, al par que más discutidos en lo que se refiere al mecanismo de su producción, es la *fibrina*, substancia á que la sangre debe la propiedad de coagularse.

A despecho de la diversidad de opiniones que reinan sobre el mecanismo de la coagulación de la sangre, hay tres puntos en que casi todos los autores coinciden y que pueden darse como resueltos: 1.°, que la mayor parte, si no todo el coágulo fibri-

noso, se engendra por la solidificación de la fibrinógena del plasma; 2.°, que el paso al estado sólido de la fibrinógena es determinado por un fermento intracelular, que se pondría en libertad tan pronto como la sangre abandona los vasos y siempre que este líquido tropieza en su curso intravascular con obstáculos que tienden á remansarlo ó con asperezas de las paredes endoteliales; 3.°, que las sales de cal son indispensables á la precipitación de la fibrina en virtud de un mecanismo no bien esclarecido todavía.

Schmidt, cuyas opiniones sobre la coagulación pasan por las más autorizadas, explica la coagulación del siguiente modo:

Según este sabio, hay que distinguir en la coagulación tres actos distintos: 1.°, la liberación de substancias zimoplásticas; 2.°, la producción del fermento; 3.°, la acción coagulante de éste.

1.° Los hematíes alterados por acción del aire, por lesión de la pared vascular ó por otras condiciones, dejan en libertad ciertas materias que, disolviéndose en el plasma, impresionan los leucocitos (y acaso también las plaquetas), acelerando la madurez del fermento en ellos alojado. Tales materias llámanse *substancias zimoplásticas.*

2.° El fermento, que llama Schmidt *trombina,* se forma solamente durante la coagulación; en la sangre viva y normal los leucocitos contienen una materia inactiva, la *protrombina,* capaz de transformarse en *trombina.* Según Duclaux (1899), los leucocitos sólo expulsarían el fermento durante sus contracciones amiboides.

3.° En presencia de la trombina libre (la cual se halla en el plasma), la *paraglobulina* de la sangre sufre una serie de metamorfosis: primero produce la *fibrinógena;* luego pasa ésta á *fibrina líquida,* y últimamente, combinándose este último albuminoide con las sales de cal, origínase la *fibrina coagulada.*

La *paraglobulina,* fase anterior de la *fibrinógena,* deriva á su vez de otros albuminoides, la *citoglobulina* y *preglobulina,* substancias residentes en los elementos de diversos tejidos y las cuales serían arrastradas al plasma sanguíneo por las corrientes de desasimilación. De este modo, tanto el fermento de la coagulación producido en los leucocitos, como las substancias zimoplásticas y paraglobulina, representan el resultado de actividades celulares.

Sobre el mecanismo de acción de las sales de cal no están acordes los autores. Contrariamente á Artur y Pages, que defienden la necesidad absoluta de las sales cálcicas en el proceso de la coagulación, Pekelharing y Hammarsten sostienen que la fibrinógena pura, mas fermento puro, pueden también generar fibrina coagulada. El papel de las citadas sales limitaríase, según estos últimos sabios, á provo-

car la transformación de la *protrombina* en *trombina*, es decir, á prestar al fermento residente en las células sanguíneas la sazón necesaria para intervenir eficazmente en la transformación de la fibrinógena. Según Arthus, las sales de cal serían indispensables para transformar la *protrombina* en *trombina activa (fibrinferment)*. Desempeñarían, pues, el papel atribuído por Schmidt á las supuestas *materias zimoplásticas*. Admite, además, que, en el acto de la coagulación, la fibrinógena no se convierte enteramente en *fibrina sólida*, sino que se desdoblaría, generando, además de esta última substancia, una *fibroglobulina* que se disolvería en el plasma. Por lo demás, la *trombina* ó fermento maduro reside, según Lilienfeld, en los leucocitos más ó menos alterados; Pekelharing y Morawitz (1903), en cambio, lo localizan en las plaquetas, reproduciendo así una antigua opinión, casi olvidada, de Bizzozero (1).

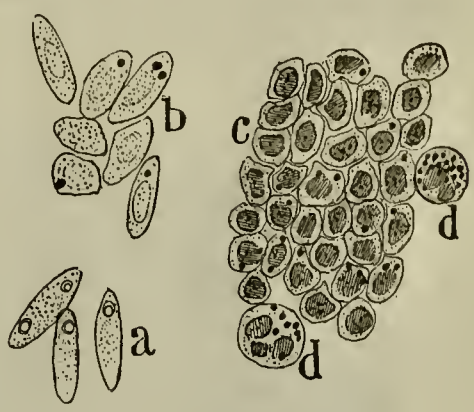

Fig. 172. — Plaquetas de la rana con partículas englobadas. — *a*, plaquetas vivas de la sangre circulante, con granos de carmin en su interior; *b*, plaquetas extravasadas con microbios englobados; *c*, acúmulo de plaquetas con microbios.

Fenómenos microscópicos de la coagulación. — El fenómeno de la coagulación puede observarse al microscopio con sólo colocar entre dos laminillas una gota de sangre fresca. Al principio los hematíes se adhieren por sus caras, constituyendo columnas que á su vez se reunen con otras para engendrar vastas redes globulares.

A los pocos minutos de examen, todas las plaquetas se han alterado, adhiriéndose al porta ó cubre-objetos y constituyendo acúmulos, en donde los contornos de cada elemento quedan fundidos en un magma granuloso (fig. 173, A). Más tarde, en la periferia de estos conglomerados, surgen unas gotas hia-

(1) Según nuestras investigaciones (1912), las plaquetas de los mamiferos contienen fosfato cálcico, fácilmente denunciable bajo la forma de granos negros mediante el nitrato de plata reducido (formación de fosfato argéntico reductible en ácido pirogálico). ¿No intervendría dicha sal calcárea intraplacular en el fenómeno de la madurez del fermento? Como consecuencia de la alteración de las plaquetas, la citada sal pasaría al plasma y podría actuar sobre él encima de los leucocitos.

linas (quizá son el fermento de la fibrina) que se mezclan al plasma, y la coagulación comienza. Esta se inicia junto á las plaquetas, de cuyo contorno brotan hilos fibrinosos divergentes, que no tardan en anastomosarse con los procedentes de otros acúmulos placulares, generándose una vasta red de trabéculas hialinas, brillantes, difícilmente perceptibles sin el auxilio de las materias tintóreas. En las mallas de la red quedan englobados los hematíes y leucocitos, y una parte del plasma ó suero.

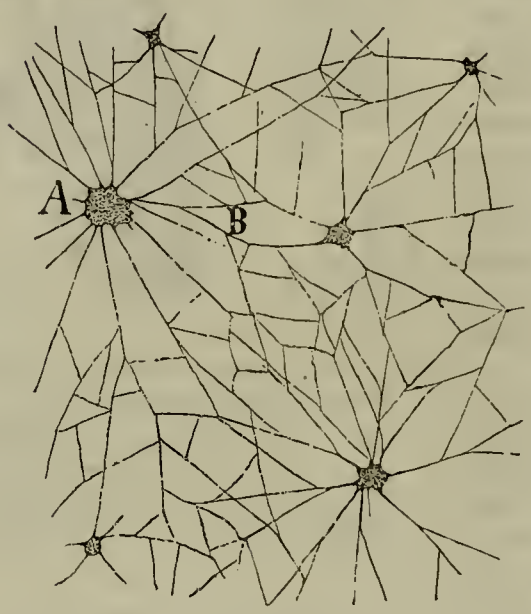

Fig. 173. — Red fibrinosa de una gota de sangre.—A, zooglea de plaquetas; B, hilos de fibrina. Los hematíes han sido destruidos por el agua.

Los *fenómenos macroscópicos de la coagulación* son bien conocidos. La sangre, recogida en un receptáculo cualquiera, tórnase, pocos momentos después de extravasada, consistente y pastosa; á los pocos minutos todo el líquido se solidifica como una masa gelatinosa que se enfría, englobando en su seno los hematíes, por cuya circunstancia el coágulo adquiere color rojo obscuro. El coágulo comprende al principio toda la masa sanguínea, mas al cabo de algunas horas la red fibrinosa se retrae, y expulsado el suero de sus mallas queda en libertad una gran cantidad de líquido cetrino, en donde acaba por nadar el coágulo mismo, considerablemente empequeñecido. En la parte superior del coágulo vése una costra blanca, compuesta exclusivamente de fibrina y leucocitos, y debida á que, en el momento de ocurrir la solidificación, casi todos los hematíes, cuyo peso específico es superior al de los leucocitos, han logrado descender algunos milímetros.

Histogenesis. — 1.° *Epoca embrionaria.* — La sangre es una producción mesodérmica que tiene origen fuera del embrión, en la llamada *área vascular* de la hoja media. Según las opiniones más concordantes, á un tiempo mismo nacen vasos y sangre, iniciándose el proceso por la construcción de una red de islotes macizos, irregulares, compuestos por un conglomerado de células mesodérmicas. Más adelante (de la vigésima á la trigésima hora de incubaciónen el embrión de pollo) ocurre una dife-

Fig. 174. — Trozo del área vascular de un embrión de pollo de veinticuatro horas.—A, zona pellúcida ó membrana vitelina; B, ectodermo; C, islotes vasculo-sanguíneos; D, células conectivas del mesodermo; E, entodermo; *a*, pared vascular en vías de formación.

renciación en las células constitutivas de estos islotes: las periféricas se aplanan y se transforman en endotelio; las centrales aparecen separadas por un líquido transparente, y se metamorfosean en hematíes nucleados ó embrionarios. En la figura 174 mostramos una sección del área vascular de un embrión de pollo de veinticuatro horas. Adviértense varios islotes vasculo-sanguíneos *(islotes de Wolf)* en vías de formación (C), en algunas de cuyas células se observan fases mitósicas. Repárese que la pared vascular comienza mediante el aplanamiento de algunos corpúsculos marginales *(a)*. Ulteriormente surge un líquido entre los elementos constitutivos del islote sanguínco y éstos se convierten en hematíes embrionarios.

Una vez formada la sangre y adelantado el desarrollo embrionario, los glóbulos se multiplican en el mismo torrente circulatorio, como puede advertirse fácilmente examinando este líquido en los embriones de mamífero de las primeras semanas. Estos hematíes embrionarios son de dos especies: 1.°, *células semihialinas* (Cajal) ó *eritroblastos* (Lœwit), corpúsculos esféricos, nucleados, hialinos y exentos de hemoglobina ó apenas teñidos por esta materia; y 2.°, *células rojas* ó glóbulos rojos nucleados, cuyos caracteres son: la esfericidad, contener un núcleo ya central, ya periférico, y presentar un protoplasma hialino, fuerte-

Fig. 175. — Diversas fases evolutivas de los hematíes circulantes en un embrión de ratón.—*a* y *b*, células semihialinas ó eritroblastos; *c*, eritroblasto en vías de mitosis; *d*, *e*, células rojas nucleadas esferoidales; *f*, hematíe cuyo núcleo está á punto de expulsión; *g*, *h*, hematíes adultos.

mente cargado de hemoglobina. Tanto las células pálidas ó semihialinas como las rojas, exhiben fases mitósicas. Entre estas dos especies celulares adviértense todas las transiciones. En los últimos meses de la vida embrionaria, las células rojas nucleadas, así como los eritroblastos ó células semihialinas desaparecen, siendo reemplazadas por hematíes normales, es decir, por glóbulos discóideos y desprovistos de núcleo. La desaparición de este órgano ocurre por un acto de expulsión (fig. 175, *f*); aunque no falten autores, como Papenheim y Jolly, que sostengan la desaparición del núcleo por atrofia y reabsorción.

La filiación más probable de todas estas formas parece ser la siguiente: 1.° Las células semihialinas ó *eritroblastos*, que representan los gérmenes de los hematíes, proliferan abundantemente; una parte de la progenie resultante se transforma, por secreción de hemoglobina, en hematíes nucleados; otra porción

subsiste algún tiempo en estado de células-gérmenes, para dar origen á nuevas proliferaciones. 2.° Las células rojas engendradas proliferan todavía, y el ciclo termina expulsándose el núcleo y convirtiéndose el cuerpo celular esferoidal en discóideo. Antes de su expulsión el núcleo suele fragmentarse, tornándose homogéneo (embrión de conejo).

En el embrión de pollo, según ha probado Fañanás (1), la fase primordial de los hematíes nucleados *(eritroblastos)* posee un diminuto aparato reticular de Golgi concentrado cerca del núcleo. Conforme la célula pasa al estado adulto, esta red se atrofia y desaparece. En la fase de célula semihialina el aparato de Golgi está representado por granitos extendidos difusamente por el protoplasma. Añadamos, que Heidenhain (1911), señala en los hematíes (embrión de ave) un *diplosoma*.

En la fig. 175 mostramos en serie el ciclo de la formación de los hematíes en un embrión de ratón.

Formación de los hematíes en el adulto. — Los trabajos de Neumann, Bizzozero, Torre, Rindfleisch, Dœnys, Jolly, etc., confirmados por nosotros (2), ponen fuera de duda que la médula del hueso y acaso el bazo, son los órganos donde en la edad adulta se engendran los hematíes. En ellos se refugian los gérmenes hemáticos (células semihialinas y glóbulos rojos nucleados), que durante los primeros tiempos de la vida fetal circulaban libremente por todo el árbol sanguíneo.

Disociada en fresco, bajo una gota de líquido indiferente, la médula roja (médula de los huesos cortos y epífisis de los largos), nos presenta dos clases de corpúsculos emparentados con los hematíes, y que no son otros que los ofrecidos por la sangre fetal, á saber: 1.°, eritroblastos ó células blancas y hialinas (figura 176, A, B); 2.°, hematíes nucleados ó células de Neumann (fig. 176, J, I). La filiación es la que dejamos reseñada más atrás: las células semihialianas ó eritroblastos proliferan abundantemente y se convierten (una parte de ellas) en células rojas de Neumann; éstas se multiplican también, como ha demostrado Bizzozero, alcanzando á veces talla notable (*megaloblasto* de

(1) *J. R. Fañanás:* Nota preventiva sobre el aparato de Golgi en el embrión de pollo. *Trab. del Lab. de Invest. biol.,* tomo X, 1912.

(2) Véase nuestro *Manual de Histología normal,* pág. 381 y siguientes.

Maximow); continuando la división por mitosis, prodúcese un tipo más pequeño (el *normoblasto)*, el cual, llegado á su madurez, pierde el núcleo por expulsión, se torna discóideo y entra en el torrente circulatorio (fig. 176, K, L).

Este fenómeno de expulsión del núcleo, primeramente observado por Rindfleisch, fué confirmado por nosotros. Recientemente ha sido notado también por Van der Stricht (1907). Para ciertos autores (Bizzozero, Neumann, Prenant, Jolly, etc. (1907), el núcleo desapareceria por una suerte de disolución dentro del cuerpo del hematíe.

Fig. 176. — Diversas fases presentadas por los eritroblastos de la médula ósea del conejo de Indias. Examen en fresco en un líquido indiferente.— A, célula semihialina ó eritroblasto voluminoso; B, eritroblasto en vías de mitosis; D, eritroblastos pequeños; F, E, J, I, células rojas de Neumann ó hematíes nucleados; H, hematíes en vías de mitosis; K, L, M, N, diversas fases de expulsión del núcleo.

Semejante parecer pugna contra dos hechos evidentes: la existencia constante de fases de excentricidad del núcleo hemático, que acaba por hacer hernia al exterior (fig. 176, M, N), y la ausencia total de esas supuestas gradaciones de disolución admitidas á la ligera por ciertos autores, que acaso han tomado erróneamente por restos nucleares algunas granulaciones finas observables de vez en cuando en los hematíes anucleados.

La localización de los eritroblastos y células rojas de Neumann en la médula roja de los mamíferos, no está suficientemente precisada. Muchos autores han supuesto que dichos elementos constituyen pléyades ó acúmulos residentes fuera de los vasos, en el interior de los cuales penetrarían los glóbulos anucleados por un mecanismo todavía desconocido. Se ha imaginado, para hacer más verosimil esta penetración, que las venitas y capilares de la médula ósea de los mamíferos están construídos de un epitelio discontinuo, es decir, salpicado de agujeros por los cuales ocurriría la inmigración de los hematies transformados. Mas todo quedaría llanamente explicado si, como parece probable,

cupiera generalizará los mamíferos un importante descubrimiento de Bizzozero y Dœnys, realizado en la médula ósea de las aves. En estos seres, las células semihialinas y glóbulos rojos nucleados residen en el interior de capilares ó venas cavernosas, constituyendo estratos concéntricos por debajo del endotelio, y en los cuales, como en el epitelio de los tubos seminíferos, pueden seguirse todas las fases de la multiplicación y metamorfosis de dichos elementos. Las capas más periféricas del contenido sanguíneo están ocupadas por las células hemihialinas, que Dœnys identifica, con razón, con los eritroblastos de Lœwit; las zonas concéntricas subsiguientes alojan los corpúsculos de Neumann; y, finalmente, el centro del vaso encierra los hematíes, que han terminado ya su evolución, y pueden entrar en la corriente sanguínea. De lo que se infiere que los hematíes son engendrados, como los zoospermos y óvulos, en una glándula especial de actividad constante, merecedora, mejor que ninguna otra, del título tan prodigado de *glándula vascular sanguínea*. Esta glándula está representada por la médula roja en los vertebrados superiores, aves y batracios, y por el bazo en los reptiles y peces.

Células vaso-formativas de Ranvier (fig. 177). — Ciertos autores, singularmente Schaffer y Ranvier, han sostenido la opinión de que los hematíes pueden formarse también en el interior de células conectivas gigantes por un mecanismo análogo al de la producción de las inclusiones en las células glandulares. Tales células, que Ranvier designa *células vaso-formativas,* hallaríanse en diferentes órganos embrionarios, y singularmente en el gran epiplón del conejo de pocos días. De forma variable, fusiforme, sacciforme ó estrellada, tales elementos producirían, á expensas de su protoplasma marginal y expansiones, las paredes vasculares, mientras que su materia central generaría numerosos hematíes adultos, es decir, henchidos de hemoglobina y desprovistos de núcleo (fig. 177).

Esta doctrina, fundada por Ranvier en 1874, fué aceptada casi sin discusión en las escuelas, y singularmente en Francia, donde solamente estos últimos años han comenzado á impugnarla Renaut (1901), Prenant (1905) y Jolly (1906). Y sin embargo, hace ya tiempo que S. Mayer, de Praga (1882) y nosotros (1886), demostramos que las consabidas *células vaso-formativas* representan en realidad trozos de capilar en vías de atrofia y regresión, dentro de los cuales, interrumpida la circulación sanguínea, se conservan cierto tiempo los hematíes. Nuestras investigaciones aportaron un dato de interés para

la discusión del problema, esto es, que las tales células encierran á menudo, no sólo glóbulos rojos inalterados y dispuestos en pila, sino leucocitos de diversos tipos y legítimas plaquetas (fig. 177, A, *d, c)*. Estos hallazgos, si armonizan con la opinión de Mayer y nuestra de que las células vaso-formativas son capilares atróficos (al objeto de crear las tardías perforaciones del epiplón), resultan incompatibles con la paradógica concepción de Ranvier, la cual aparece en palma-

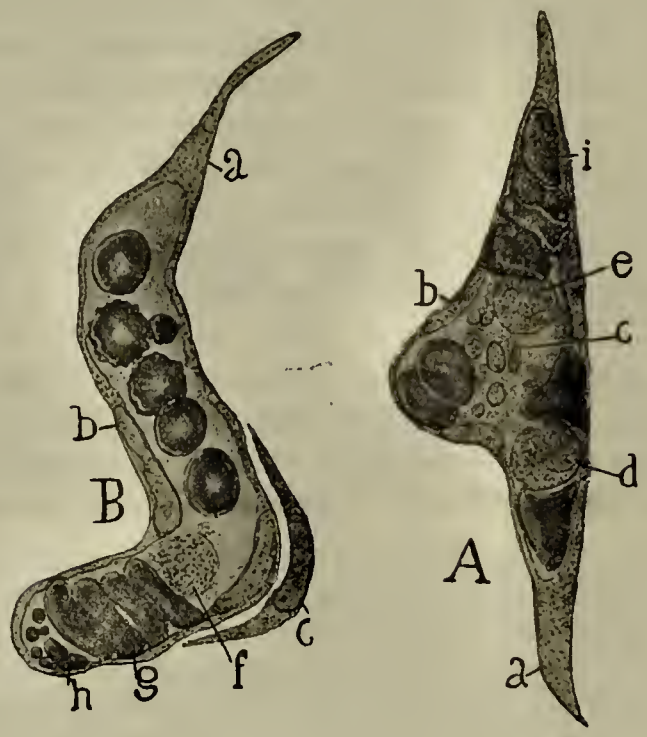

Fig. 177. — Células vaso-formativas de Ranvier. — A, pretendida célula que encierra en su interior hematíes, leucocitos *(d, e)* y plaquetas *(c)*; B, otro corpúsculo pretendido, cuyos hematíes *(g)* se disponen en columnas; *a*, expansión protoplásmica en vías de atrofia; *c*, célula conjuntiva perivascular.

ria contradicción con cuanto sabemos acerca del mecanismo celulogenético de los tejidos funcionalmente diferenciados, y con el hecho incontestable de la individualidad celular de los hematíes en las series filogénica y ontogénica.

Origen de los leucocitos. — Cuestión es ésta que ha sido muy controvertida, y lo es aún, sobre todo en lo referente á la cuna de ciertas variedades de leucocitos; pero del fondo de los trabajos publicados en estos últimos tiempos, arranca una convicción, á saber: que el origen de los leucocitos es doble, pudiendo ocurrir: ó por proliferación intra-sanguínea de leucocitos preexistentes,

como ya demostraron *de visu* Striker, Arnold y Ranvier y nosotros, y más recientemente Spronk y van der Strich, mediante el reconocimiento de fases carioquinéticas; ó por mitosis de ciertas células-gérmenes, los verdaderos leucoblastos, residentes en los ganglios linfáticos, bazo y médula ósea. Este último origen parece con mucho el más importante, y armoniza bien con el aumento de leucocitos que la linfa presenta después de atravesar los ganglios linfáticos, así como con las numerosas y constantes mitosis que se ven en los folículos de los ganglios, médula ósea y demás tejidos linfoides (Flemming, Cajal, Heidenhaim, Hoyer, Benda, Saxer, Papenheim, Weidenreich, etc.).

Las opiniones emitidas sobre el origen de los glóbulos blancos son numerosas. Abandonaríamos la concisión que nos hemos impuesto si hubiésemos de reseñarlas todas, aun las más principales.

Todas ellas, sin embargo, pueden, descartando detalles, reducirse á dos: la *doctrina polifilética* ó de la pluralidad de razas leucocíticas, y la *doctrina monofilética* ó de la unidad de origen y de raza.

a) *Doctrina polifilética.*—Fundada por el ilustre Ehrlich y defendida por sus numerosos discípulos (Dœnys, Schmaus, Levaditi, etc.), goza de mucha boga entre los anatomo-patólogos, que aducen argumentos de valía.

Según dichos sabios, cada variedad leucocítica desciende de una raza especial perfectamente fija é individualizada y con asiento en órganos especiales. Y aunque no cabe establecer tantas localizaciones como razas de glóbulos blancos, se admiten como seguras las siguientes: 1.ª, la estirpe de los *linfocitos* ó leucocitos pequeños tendría sus células-gérmenes ó leucoblastos en los ganglios linfáticos, en el territorio de los folículos, de donde los elementos hijos caerían en la linfa, pasando después á la sangre; 2.ª, la estirpe de los corpúsculos granulosos, esto es, los leucocitos de granulaciones neutrófilas y los de granos eosinófilos, tendrían, en totalidad, sus células-gérmenes en la médula ósea, dentro de distritos próximos á los vasos, de donde ingresarían por progresión amiboidea en el torrente sanguíneo; 3.ª, y en fin, la estirpe de las células gruesas mononucleadas, de patria un tanto dudosa, dimanaría, según algunos autores, de los cordones citógenos y corpúsculos de Malpigio del bazo, aunque reconocen que este órgano es el menos activo de los hematopoyéticos (hay autores que ponen la cuna de los mononucleados en la médula ósea).

Indicios, ya que no pruebas decisivas de esta concepción, son las siguientes observaciones: *a,* la ausencia en los ganglios linfáticos de

células eosinófilas y neutrófilas, abundando, en cambio, los linfocitos; *b,* el notable caudal de elementos eosinófilos y neutrófilos existentes en la médula ósea; *c,* y, en fin, la observación de que en las leucemias varían las proporciones de las especies leucocíticas arribadas á la sangre según que los órganos afectos de hiperplasia (linfomas) sean el bazo, la médula ósea ó los ganglios linfáticos.

b) *Doctrina monofilética.* — Iniciada por Lœwit y especialmente defendida por los modernos histólogos, Guillauds, Hauthack, Grawitz, Helly, Prenant (1905), Weidenreich (1906), etc., esta concepción supone que todas las variedades de leucocitos derivan de un tronco común, es decir, de una sola especie de células gérmenes ó leucoblastos de Lœvit, diversificándose después, durante su circulación por la linfa y sangre, hasta constituir los diversos tipos conocidos, que no representan, en suma, otra cosa que fases más ó menos duraderas de una evolución incesante.

Semejante evolución arranca del *leucoblasto* ó célula germen; de éste deriva el linfocito, que pasa después á célula gruesa mononucleada, la cual á su vez se convierte, previa alguna gradación intermedia *(leucocitos intermediarios),* en el leucocito de granos neutrófilos y, en definitiva, en la célula de granitos eosinófilos ó basiófilos. El orden de transformación aparece representado en la figura 166, donde puede notarse que los anillos extremos del ciclo evolutivo están constituídos por el linfocito y por el leucocito con granos eosinófilos.

En cuanto á la localización de los leucoblastos ó células gérmenes, tendría lugar indistintamente en el bazo, médula ósea, ganglios linfáticos, tejido citógeno de la mucosa intestinal, etc.

La precedente hipótesis monofilética, que de día en día granjea más adeptos, se basa en las siguientes observaciones: *a,* cuando se extirpa el bazo ó se separan numerosas glándulas linfáticas, no desaparece de la sangre ninguna especie leucocítica; *b,* el mismo resultado se obtiene cuando la médula ósea se inutiliza (caso de Nothnagel, en que á causa de una esclerosis ósea con desaparición de la médula roja é hiperplasia de ganglios linfáticos y bazo, no faltó ninguna categoría de leucocitos); *c,* los leucocitos con granulaciones basiófilas y acidófilas habitan también en el bazo y los ganglios linfáticos; *d,* las granulaciones leucocíticas distan mucho de ser específicas, como suponen los discípulos de Ehrlich, antes bien se encuentran glóbulos blancos provistos de los dos órdenes de granulaciones basiófilas y acidófilas (Arnold, Hesse, 1902) y hay indicios para suponer que las eosinófilas representan substancias fagocitadas (Weidenreich, 1906); *e,* en fin, entre el linfocito y el leucocito mononucleado, así como entre éste y el multinucleado neutrófilo, encuéntranse en la sangre circulante todas las transiciones.

Origen de los leucocitos en el embrión. — En un principio se había supuesto que los leucocitos se diferencian en el embrión al mismo tiempo que los hematíes, apareciendo en el interior de los islotes sanguíneos ó de Wolf. Pero actualmente va ganando terreno otra hipótesis que se enlaza con las interesantes observaciones de Saxer. Según este sabio, ya desde muy temprano contiene el mesodermo ciertas células emigrantes esféricas, relativamente voluminosas, mononucleadas, que denomina *corpúsculos emigrantes primarios.* Tales células disemínanse sucesivamente por las formaciones mesenquimatosas y, llegada la época fetal, se concentran, colonizando muy especialmente en el bazo, ganglios linfáticos y médula ósea. De este corpúsculo primitivo ó *célula de Saxer* procede el linfocito y los diversos tipos de células blancas ulteriormente diferenciadas (Saxer, Spuler, Maximow, 1908). Buena parte de los corpúsculos de Saxer invadirían por inmigración los vasos embrionarios, convirtiéndose en células blancas intrasanguíneas (Prenant). Mas en lo tocante al modo de aparición de los primeros leucocitos intravasculares, la ciencia dista mucho de haber dicho la última palabra.

Una doctrina que podría calificarse de *ultraunitaria* ha sido recientemente proclamada por Maximow (1908), como resultado de sus investigaciones acerca del origen de los glóbulos de la sangre del embrión de conejo. Para este sabio, cuyos trabajos han sido confirmados por Vera Dantschakoff (1908), en los islotes de Wolf del área vascular, así como en el espesor del mesenquima (embrión del conejo de ocho días), aparecerían unas células incoloras, gruesas, semejantes á linfocitos, que designa *corpúsculos sanguíneos primitivos.* Este tipo embrionario ó germinal se conserva con iguales caracteres durante la vida extrauterina, refugiándose en los órganos hematopoyéticos (médula ósea, bazo, etc.), donde evolucionará para producir todas las células sanguíneas. Ahora bien, la descendencia de tal elemento germinal es doble. Mediante progresiva diferenciación, da origen: 1.°, á la raza de los hematíes, es decir, á corpúsculos rojos nucleados (eritroblastos de Lœwit), dotados de capacidad mitósica y que pasan á ser primeramente hematíes grandes *(megaloblastos)* y después hematíes normales *(normoblastos)*; 2.°, á *la raza de los leucoblastos,* que Maximow designa con poca fortuna *linfocitos,* esto es, á corpúsculos mononucleados pequeños, sin aptitud para formar hemoglobina y que sucesivamente se transforman en la conocida serie leucocítica (linfocito, célula grande mononucleada, leucocito con granulaciones, etc.). Para el histólogo ruso la raza de los leucocitos aparecería separada y casi simultáneamente, tanto en el interior del árbol sanguíneo (por diferenciación del *corpúsculo sanguíneo primitivo),* como en pleno tejido mesenquimatoso del embrión. En el mesodermo del conejo, las primeras células leucocíticas dotadas de

poder amiboide (elemento de Saxer) aparecen á los nueve días de la vida embrionaria.

Origen de las plaquetas. — Es desconocido y sólo pueden hacerse conjeturas sobre la localidad y modo de producción de estos corpúsculos. Algunos autores reputan las plaquetas fragmentos de hematíes ó precipitados fibrinosos (1); pero si se tiene en cuenta la naturaleza celular de tales elementos en los vertebrados inferiores, no parece irracional admitir que también en los mamíferos pasan por una fase celular nucleada, cuyo asiento podría ser el bazo. La eliminación del núcleo daría lugar á la transformación en plaqueta. Reconocido este origen, podría aceptarse una multiplicación activa de las plaquetas, durante su fase embrionaria. Sea de ello lo que quiera, merece consignarse, porque armoniza con lo expuesto, que en la rana, según Mondino y Fusari, las plaquetas se multiplican en plena corriente sanguínea.

Propiedades fisiológicas. — Cada uno de los factores de que la sangre consta, desempeña un oficio dominante, para el que se ha diferenciado especialmente.

El *hematíe* es una célula muerta que ha perdido su estructura para mejor ejecutar su papel, que no es otro que servir de vehículo al oxígeno, tomándolo del aire en el pulmón y llevándolo á las intimidades de los tejidos. Hasta la ausencia de núcleo en los hematíes de los mamíferos implica una diferenciación utilitaria, puesto que de este modo pueden los glóbulos condensar más oxígeno en menos masa.

Los *glóbulos blancos* parecen ser los encargados de realizar la asepsia intra-orgánica, impidiendo el acceso de microbios y de toda clase de partículas extrañas. Son asimismo los agentes de la destrucción y absorción de todos los órganos ó tejidos cuya oportunidad fisiológica pasó definitivamente.

Estas múltiples funciones realízanlas los leucocitos gracias á dos propiedades dominantes, aptitud de variar de forma para escurrirse por las junturas endotélicas y recorrer libremente las lagunas conjuntivas; y capacidad de englobar en su protoplasma, y acaso digerir, como quiere Metchnikoff, todas las partículas orgánicas sólidas de pequeña dimensión.

(1) Este dictamen, sostenido modernamente por Arnold, Weidenreich, Jolly y otros, es el que nosotros defendimos hace muchos años (1885) y que, en ausencia de pruebas, hemos abandonado.

Cuando el microbio ó célula fagocitable es de pequeña dimensión, el leucocito lo encarcela en su protoplasma y acaba, en el supuesto de ser digestible, por devorarlo. Mas si la talla del cuerpo extraño es considerable, el leucocito lo corroe, y aun puede, caso de ser blando, penetrar en su interior, labrando en él galerías que facilitan su destrucción y reabsorción. Esta singular acción, estudiada hace años por nosotros en las neoplasias (1895), y á la que dimos el nombre de *traumacitosis,* aparece claramente en la figura 178, *a,* donde reproducimos una cé-

Fig. 178.—Célula nerviosa sensitiva en vías de destrucción (transplantación de un ganglio sensitivo de un perro bajo la piel de un animal de la misma especie. — A, protoplasma granuloso de la célula nerviosa; *a*, leucocitos que han creado galerías de corrosión dentro del protoplasma; *b*, *c*, leucocitos que han fagocitado granos de mielina y detritus de cilindros-ejes.

lula nerviosa transplantada, atacada y destruída por corpúsculos emigradores. Una citolisis semejante, operada también por leucocitos, ha sido comprobada por Anglas en la metamorfosis de los insectos *(lyocitosis),* y por Nageotte en la célula nerviosa. En la desaparición de la cola del renacuajo y atrofia de muchos órganos embrionarios, combínase á menudo la fagocitosis con la *traumacitosis ó citolisis.*

Es probable que algunos de aquellos leucocitos portadores de granulaciones, tengan además carácter de glándulas monocelulares errantes, cuyo destino podría ser llevar, ora materias nutritivas á ciertos territorios orgánicos, ora fermentos defensivos capaces de esterilizar (como imaginan algunos patólogos) los

tejidos invadidos por microbios patógenos. También Prenant (1903) confirma este papel de glándulas monocelulares, adjudicable sobre todo á los leucocitos provistos de granulaciones.

La misión de las *plaquetas* parece responder asimismo á prudentes previsiones del organismo (1). Cuando un vaso sufre un traumatismo (pequeña herida, contusión, ligadura, etc.), las plaquetas acuden en masa al punto lesionado, conglutinándose en bloques considerables y produciendo un tapón obturador que cohibe ó previene la hemorragia, ínterin las energías proliferantes de las células de tejido intervienen para reparar el daño con arreglos definitivos. Como nosotros hemos probado, las plaquetas de la rana poseen movimientos amiboides, así como cualidades fagocíticas, puesto que pueden englobar partículas de carmín y diversas especies de microbios (2). La aptitud de las plaquetas á conglutinarse y formar plasmodios y trombus blancos, les ha valido el nombre de *trombocitos* (Giglio-Tos). Añadamos que las plaquetas podrían intervenir también en el fenómeno de la coagulación de la fibrinógena por su dotación de sales calcáreas.

Estos ejemplos prueban que muchas de las disposiciones orgánicas no han sido creadas para desempeñar una función actual fisiológica, sino para ocurrir á conflictos posibles, aunque extraordinarios, entre el organismo y los agentes exteriores.

En cuanto al *plasma,* además de constituir el medio nutritivo interior del organismo, contiene en estado normal, y sobre todo en estado patológico, multitud de fermentos ó *encimas* de poderosa eficacia defensiva contra células extrañas, microbios, toxinas y hasta contra substancias albuminoides exógenas.

Citemos, entre otros, las *precipitinas,* las *hemolisinas* y las *lisinas* bacterianas.

Precipitinas. — Cuando se inyecta en un animal de la especie A plasma sanguíneo procedente de la especie B, la sangre de

(1) Entiéndanse siempre en sentido metafórico las expresiones antropomórficas del texto. Las diferenciaciones y actos celulares carecen de intencionalidad y representan adaptaciones y variaciones útiles fijadas por la herencia y exageradas por la selección.

(2) *Cajal:* La fagocitosis en las plaquetas. *Rev. trim. micrógr.,* 1896, número 2.

aquél contiene algún tiempo después una substancia *(precipitina)* capaz de coagular los albuminoides disueltos en el plasma del vertebrado B (Tchistowitsch, Bordet, Nutall, etc.). De semejante reacción específica se saca gran partido en Medicina legal, al objeto de reconocer el animal de que procede una mancha de sangre.

Hemolisinas. — Si en vez de inyectar solamente plasmas ó suero en el animal de la especie A, se inyectan hematíes de la especie B, la sangre de A elabora un fermento (*hemolisina*) susceptible de disolver *in vitro* los glóbulos blancos del animal utilizado en el experimento (Bordet). Aunque específica, esta reacción posee á veces valor de familia ó filogénico. Por ejemplo: el plasma de perro inyectado con sangre humana goza de propiedades hemolíticas no sólo contra los glóbulos rojos del hombre, sino contra los hematíes de los antropoides.

Lisinas. — En fin, inoculando en un animal microbios patógenos, aparecen en su sangre, aparte otras substancias, cierta *lisina* específica, la cual, en unión de un principio permanente del plasma (la *alexina* ó *complemento* de Ehrlich), provoca la destrucción de los parásitos.

De pensar es que los referidos fermentos sean producto, no del plasma mismo, sino de los leucocitos ó acaso de elementos contenidos en los órganos hematopoyéticos, desde los cuales pasarían por disolución al torrente circulatorio.

Circulación de la sangre vista al microscopio. — El orden de marcha de los corpúsculos sanguíneos no es el mismo en los vasos gruesos que en los delgados. Cuando se examina la circulación de la sangre en una arteria ó vena de algún calibre, se nota que la corriente sanguínea es sumamente rápida y que todas las células parecen marchar con igual velocidad. Mas si el examen recae en las arteriolas ó en las pequeñas venas, advertiremos que la sangre se divide en dos corrientes ó zonas: *capa periférica* ó blanca, por la cual sólo discurren el plasma y los leucocitos; *capa central* ó roja, por donde marchan los hematíes y plaquetas. En la zona periférica el movimiento es lento, observándose cómo los leucocitos se deslizan perezosamente por el endotelio, en el cual pueden permanecer á veces pegados é inmóviles; por el contra-

rio, los hematíes circulan con tanta rapidez que cuesta trabajo distinguir sus contornos.

Muerte de los glóbulos. — Las células sanguíneas, cuya cuna conocemos ya, son corpúsculos efímeros que quizá no duran sino algunas semanas. Continuamente se destruyen hematíes en el bazo, hígado y médula ósea, y sus restos aparecen á menudo englobados por las células de dichos órganos. En cuanto á los leucocitos, las emigraciones constantes á que están sometidos, y su continuo vagar por las superficies epiteliales (glándulas, intestino, pulmón, amígdalas, etc.), producen la muerte de muchos de ellos.

Compréndese, por tanto, que sea permanente el trabajo reparador en los órganos hematopoyéticos (médula ósea, ganglios linfáticos y bazo), y que aumente todavía durante las afecciones microbianas, á fin de compensar las pérdidas leucocíticas exigidas por la lucha entablada entre el organismo y los parásitos invasores.

LINFA Y QUILO

La *linfa* es un líquido blanco, transparente, coagulable, que circula por los vasos linfáticos. El líquido acarreado por los linfáticos intestinales durante la digestión, es de aspecto lechoso y toma el nombre de *quilo*.

Tanto el quilo como la linfa encierran un gran número de leucocitos pertenecientes á todas las variedades que hemos descrito en la sangre. El quilo contiene, además, multitud de finísimas gotas de grasa incapaces de conglutinarse, pues se hallan rodeadas, según se cree, por delicada cubierta albuminoide. Según Lœwit, la linfa alberga también leucoblastos y eritroblastos, aserción que necesita confirmarse.

El *plasma linfático* es alcalino, más rico en agua que el de la sangre y espontáneamente coagulable; no se solidifica sino fuera de los vasos, bajo la acción del aire, y el coágulo es blanco y más blando y pequeño que el de la sangre, á causa de la escasez de elementos englobados. Este coágulo no es retráctil como el de la sangre, particularidad que Arthus atribuye á la ausencia de plaquetas.

Según Hensen y Dähnhard, la linfa humana consta en mil partes de:

Albuminoides 2'6	1'070 fibrinógena. 0'984 serum-globulina. 1'408 serum-albúmina.
Grasa, colesterina, lecitina	0'03
Materias extractivas	1'28
Sales	8'38
Agua	987'07

El quilo posee análoga composición que la linfa, coagula igualmente por la acción del aire, y distinguese de la linfa por contener más grasa.

Preparación de la sangre. — 1.ª *Examen de los hematíes en el hombre.* — Nada más fácil que el estudio de los glóbulos rojos. No hay más que hacer una picadura en la yema de un dedo y extender la sangre así obtenida entre dos laminillas, teniendo cuidado que la capa de líquido no contenga más que una sola fila de hematíes. A fin de evitar la desecación y resguardar los glóbulos de la influencia atmosférica, se cementará la preparación con parafina, ó se lubrificará simplemente el contorno con aceite.

Si se desea estudiar la sangre de rana, animal que puede elegirse como tipo de los vertebrados ovíparos, el procedimiento de extracción y de preparación será análogo. Convendrá, sin embargo, en vez de extraer la sangre por picadura ó sección de los dedos (lo que nos daría un líquido tan rico de linfa como de sangre), acudir al corazón mismo donde aquel humor es puro y abundante.

No hace falta conservar las preparaciones de sangre; tan fácil es hacerlas y renovarlas. Alguna vez puede convenir, empero, mantener en preparado definitivo los hematíes fijados por desecación rápida, los tratados por el ácido ósmico (al 1 por 100) y los fijados en bicloruro de mercurio. Estos dos últimos reactivos consienten el montaje en la glicerina. Los glóbulos preparados por desecación se cubrirán no más de una laminilla.

2.ª *Examen de las plaquetas.* — El mejor procedimiento es estudiarlas en la sangre circulante, donde se muestran con todas sus propiedades fisiológicas (véase el examen de la circulación al microscopio). Para observarlas sin alteraciones en la sangre extraída, es preciso recoger este líquido en el licor conservador de Bizzozero: agua destilada, 100; cloruro de sodio, 0'75; violeta de metilo, c. s. para dar al reactivo un matiz violeta obscuro. A este fin, lo más cómodo y

lo más seguro es derramar una gota de este licor en el mismo paraje de la piel donde ha de practicarse la puntura; así la sangre no toca ni un momento al aire, y las plaquetas se conservan algunas horas con su forma típica. El estudio de las plaquetas alteradas y de las redes fibrinosas debe hacerse en la sangre pura, frescamente extraída. Unicamente con la mira de que las redes fibrinosas destaquen mejor, será provechoso el empleo de la solución yodo-yodurada.

En la sangre coagulada de los mamíferos las plaquetas son fácilmente reconocibles mediante el proceder del nitrato de plata reducido. Para ello conviene especialmente la fijación del tejido en piridina al 60 por 100 (cuatro días de estufa). Véase más adelante los detalles de este método.

3.ª *Leucocitos.* — El examen de los leucocitos vivos no reclama ninguna precaución particular. Se recordará solamente que los movimientos amiboides exigen para su observación en los animales de sangre caliente una temperatura próxima á 37°.

La coloración de los leucocitos y de sus granulaciones exige métodos especiales. Para teñir los leucocitos provistos de granitos eosinófilos (α, de Ehrlich), se comenzará por desecar una gota de sangre (y en capa delgadísima) sobre un cubre-objetos; luego se lleva el preparado á un baño de arena (con la capa de sangre al descubierto) donde sufrirá una temperatura de 120°, y por último, se colocará en una solución de eosina en hematoxilina, disolución que se prepara añadiendo á 100 gramos de hematoxilina de Ehrlich, 1 gramo de eosina. Este líquido se hará obrar algunos minutos sobre la preparación, que se terminará lavándola en mucha agua, desecándola entre papel de filtro y montándola en resina damar. Los hematíes se presentarán rojos, azules los leucocitos y rojas las granulaciones eosinófilas de éstos.

La demostración de las granulaciones neutrófilas, exige la aplicación sobre una capa de sangre desecada y sometida á 120° de esta mezcla: agua, 5; solución acuosa saturada de fuchina ácida, 5; solución concentrada acuosa de azul de metileno, 1. Después de varios minutos de acción y efectuada la decoloración en agua, se procede al secado y al montaje en damar. En el protoplasma de los leucocitos así tratados, se mostrarán teñidos en violado, ciertos granitos, es decir, los *neutrófilos* (granulaciones de Ehrlich).

El teñido de las granulaciones basiófilas (γ, de Ehrlich) se logra con cualquier anilina básica. Particularmente recomendables son: la solución de Dalia, la tionina y el azul de metileno.

Si se desea impregnar solamente el núcleo de los leucocitos, no hace falta desecar la sangre: bastará mezclar con ésta, recién extraída de los vasos, una solución concentrada de azul ó de verde de metileno, adicionadas de unas gotas de ácido acético.

Un buen método para el teñido de la sangre es el empleo del líquido de Giemsa.

Prepárese el líquido colorante siguiente :

Azur II, es decir, clorhidrato de azur + azul de metileno Höcht	á partes iguales.
Eosina	3 gramos.
Azur II	0'8 —

Deséquese la mezcla, pulverícese y disuélvase á 60° en 250 centímetros cúbicos de glicerina Merck; añádanse después, también á 60°, 250 cent. cúb. de alcohol metílico. Después de agitar, se deja el líquido reposar veinticuatro horas. Filtración.

El licor de Giemsa véndese ya preparado en el comercio de reactivos micrográficos.

Para teñir la sangre, se fija en alcohol de diez á treinta minutos, se tiñe quince minutos con la solución al $^1/_3$ en agua destilada y se diferencia con la mezcla de Orange y tanino de Grübler. Los núcleos aparecen azules; las granulaciones basiófilas de los leucocitos, azul obscuro; las eosinófilas, rosas; y, en fin, las neutrófilas, morenas.

4.ª *Circulación de la sangre.* — Este interesante fenómeno puede sorprenderse fácilmente al microscopio en todos los órganos transparentes de los vertebrados: el mesenterio, la lengua y la membrana interdigital de la rana, las expansiones de la cola del renacuajo, y el epiplón y mesenterio de los pequeños mamíferos (rata, conejo de Indias, etc.), son las partes ordinariamente preferidas. Al tratar de los métodos de examen, hemos hablado ya del *modus operandi* que conviene para observar la circulación en la rana.

Entre los mamíferos, el más adecuado á este examen es el conejo indiano de pocas semanas. Antes de extraer el mesenterio, se inmovilizará el animal por el método de Bizzozero, es decir, por inyección en la cavidad peritoneal de cierta cantidad de hidrato de cloral (2 gramos de solución acuosa al 5 por 100).

5.ª *Examen de las células rojas nucleares, etc.* — El procedimiento que más confianza debe merecernos para el estudio de estas células, es el examen en fresco, sin otro vehículo que el plasma que naturalmente empapa y separa los elementos vivos. A veces, los corpúsculos están tan apiñados (barro esplénico, médula ósea), que se hace precisa su separación y dilución: en tal caso, usaremos exclusivamente como vehículo inofensivo el licor sódico (sal, 0'50 á 0'75 por 100 de agua), que conserva no sólo la forma, color, etc., de los hematíes embrionarios, sino los movimientos amiboides de los leucocitos y meduloceles. Para estudiar los fenómenos mitósicos de los eritroblastos y sus relaciones con los hematíes adultos, preferiremos, siguiendo á Bizzozero y Dœnys, la médula ósea de las aves (gallina,

paloma). Abierto el femur de estos animales, y extraído el tuétano (que forma una columna blanda y rojiza), será fijado éste en sublimado, ó en líquido de Herman, ó en la solución de formol; luego se incluirá, según las reglas, en celoidina y se colorará ya con la tionina (solución saturada en agua y decoloración en alcohol), ya con la safranina, ora con la hematoxilina de Böhmer, ora con la hematoxilina ferruginosa de M. Heidenhain.

También puede emplearse con éxito el método de Lœwit, que consiste en fijar los ganglios, bazo ó médula ósea en una solución de cloruro platínico al 0'1 por 100, incluir después en parafina, colorar los cortes en safranina y decolorar, por diez ó quince segundos, en una mezcla de 3 cent. cúb. de solución alcohólica de ácido pícrico y una á dos gotas de tintura de yodo. Este líquido roba el color á casi todos los núcleos, menos á los de los eritroblastos que se presentan intensamente teñidos en rojo.

6.ª *Hemoglobina.* — Para preparar fácilmente los cristales de la sangre, debe escogerse un animal cuya hemoglobina sea poco soluble en el plasma, como, por ejemplo, el conejillo de Indias. La sangre de este roedor, despojada de la fibrina por el batido, se mezcla en proporciones iguales con éter sulfúrico; á los pocos minutos, la materia colorante, que se ha disuelto en plasma, comienza á precipitarse en el fondo y paredes del recipiente bajo la forma de elegantes tetaedros anaranjados, casi todos microscópicos. La observación se efectuará en el agua madre.

Desgraciadamente, estas preparaciones son dificilísimas de conservar. Hemos ensayado con tal fin la desecación, el ácido ósmico y el yodo, pero sólo el alcohol absoluto nos ha proporcionado resultados tolerables. El *modus faciendi* se reduce á tratar por el alcohol absoluto una capa extendida y todavía húmeda de cristales hemoglóbicos. Fijos los cristales por el reactivo, se lava el preparado y se conserva en glicerina. La forma de los cristales se conserva bien, pero desmerece el color.

7.ª *Preparación de la linfa y quilo.* — Para efectuar el examen de estos líquidos en los animales superiores, se eligirá un mamífero de gran talla (asno, caballo) muerto en plena digestión. A favor de una pipeta capilar, se tomará linfa del conducto torácico ó de los linfáticos del mesenterio, muy visibles cuando están ingurgitados por el quilo.

En los animales inferiores es más difícil recoger linfa perfectamente pura. No obstante, en la rana cabrá obtenerla casi pura introduciendo un tubo capilar esterilizado en el saco linfático dorsal y soplando el líquido, que haya penetrado por capilaridad, sobre un porta-objeto. Prolongando la observación algún tiempo, se comprobarán fácilmente los fenómenos de contractilidad amiboide y de englobamiento de corpúsculos extraños.

CAPÍTULO XIII

TEJIDO DE SUBSTANCIA CONJUNTIVA

Consideraciones generales. — Los tejidos que vamos á exponer ahora, á saber: el conjuntivo, el adiposo, el cartilaginoso, el óseo y el dentario, poseen, sin perjuicio de su cabal individualidad, rasgos comunes reveladores de su íntimo parentesco, y los cuales conviene, por razón de método, anteponer á la historia circunstanciada de cada especie. Estos rasgos son : analogías de origen, de estructura, de composición química y de fisiologismo.

Analogías genéticas. — Los tejidos conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, óseo y dentario son diferenciaciones del mesodermo, por lo menos en los vertebrados superiores.

Analogías estructurales. — Los mencionados tejidos se componen de dos cosas : las células, comunmente estrelladas ó fusíformes, y una materia, fundamental, generalmente abundante y descompuesta en finas hebras y hacecillos.

Analogías químicas. — La materia fundamental de estos tejidos encierra un principio protéico (colágena, osteina, condrina), susceptible de ser reducido por la cocción á jalea ó gelatina.

Analogías funcionales. — Todas las especies conjuntivas desempeñan un oficio común : construir el esqueleto del organismo y servir de medio de unión y protección á los diversos órganos y tejidos.

TEJIDO CONJUNTIVO PROPIAMENTE DICHO

Definición. — Este tejido, llamado también *unitivo, fibrilar* y *celular,* se caracteriza por su color blanquecino, consistencia semiblanda, y por constar de dos factores principales : células

aplanadas y asteriformes, á veces anastomosadas, y una materia homogénea intersticial, recorrida por infinitos hacecillos de fibras colágenas.

División. — Aunque el tejido conjuntivo conserva sus rasgos esenciales en todas las localidades orgánicas, experimenta en ciertos órganos modificaciones de detalle que autorizan una división. La variedad conjuntiva más importante está representada por el *tejido conectivo laxo,* cuyos caracteres más salientes son: la ubicuidad y el no modelarse jamás en órganos especiales.

Las otras variedades, tales como el *tejido conjuntivo fibroso,* el *citógeno* ó *adenoideo,* el *corneal* y el *membranoso,* afectan una distribución menos general, y constituyen casi exclusivamente ciertos órganos (tendones, ganglios linfáticos, epiplones, etc.).

VARIEDAD CONJUNTIVA LAXA

Definición. — Es una modalidad conjuntiva blanda, extensible, esparcida por casi todo el organismo y construída por células aplanadas y escasas, separadas por hacecillos colágenos flojos, y dispuestos en todas direcciones.

Caracteres físicos y distribución. — El tejido conjuntivo laxo es blanco, grisáceo, grandemente extensible y elástico. Entra como factor de composición en casi todos los órganos, bien proporcionándoles envolturas protectrices *(membranas* ó *cápsulas),* bien rellenando sus intervalos *(tejido conectivo interorgánico),* bien penetrando en su trama microscópica, á fin de sostener, separar y nutrir los elementos activos *(tejido conectivo intersticial).* El tejido conectivo se modela en capas de vario espesor por debajo de los epitelios (dermis de la piel y mucosas) acompaña constantemente á los vasos, á través de todos los tejidos.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio un pedazo de tejido conjuntivo laxo, convenientemente disociado á favor de inyecciones intersticiales, atrae nuestra atención la presencia de cuatro elementos: los *haces conectivos,* la *materia amorfa,* las *fibras elásticas* y las *células fijas y emigrantes.*

Hacecillos conjuntivos (fig. 179, A). — Son manojos transparentes, incoloros, que surcan la preparación en todos sentidos y están formados de la reunión de finísimas hebras paralelas. Varía mucho el grosor de estos haces, oscilando entre 2 μ y 20 ó más μ; su curso es tortuoso, describiendo zig-zag, é incorporándose, sin presentar jamás extremo libre, á otros hacecillos.

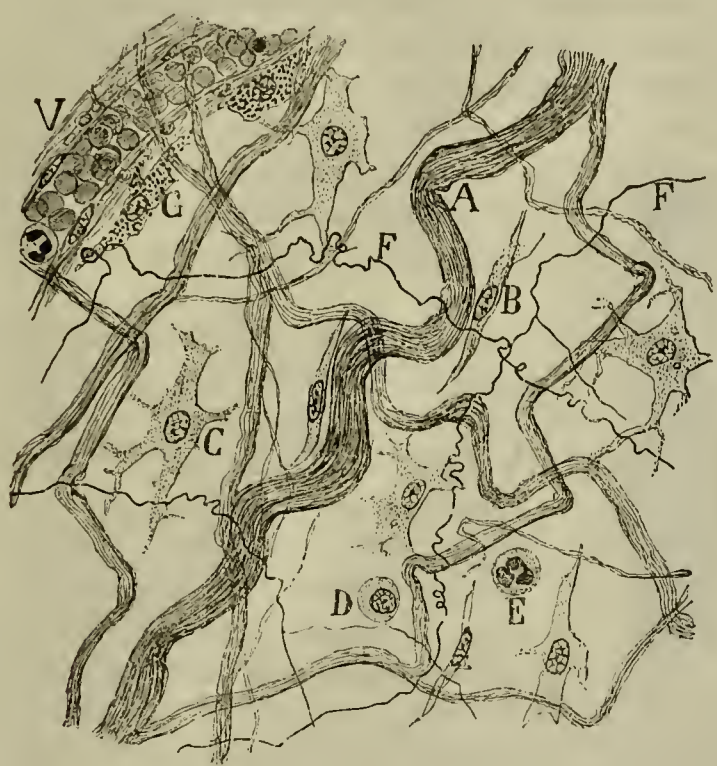

Fig. 179. — Tejido conjuntivo laxo del conejillo de Indias. Preparación por inyección intersticial del líquido sódico metílico de Bizzozero. — A, haces de fibras colágenas; B, célula fija vista de canto; C, células fijas examinadas de frente; D, célula emigrante; E, leucocito de núcleo giboso; F, fibras elásticas; G, células de Ehrlich ó con gránulos basiófilos; V, vaso sanguíneo.

Las frecuentes ramificaciones de los haces y sus anastomosis repetidas, dan origen á una vasta red cuyos espacios, llamados *lagunas conjuntivas,* alojan el plasma linfático y los elementos morfológicos.

El carmín y la hematoxilina tiñen los haces conjuntivos, aunque menos intensamente que los núcleos. Más enérgica y selectivamente se coloran por la fuchina pícrica de v. Gieson y por

el carmín picro-índigo (solución de carmín de índigo en ácido pícrico á saturación): la substancia que contiene es, pues, notablemente *acidófila*. El agua de cal, las soluciones concentradas de ácido pícrico, de hipermanganato potásico, etc., destruyen el cemento que mantiene asociadas las fibrillas, obteniéndose éstas en estado libre. Con fuertes objetivos se nota que cada fibra es un cordón cilíndrico, hialino, irreductible á nuevos hilos. El ácido acético hincha los fascículos, tornándolos homogéneos y haciéndole desaparecer las fibrillas. Bajo la influencia de la cocción prolongada, dichas hebras se convierten en gelatina; resisten, en cambio, á la digestión tripsínica, y no se alteran por el alcohol, bicromato potásico, ácido ósmico, etc.

Fig. 180. — Haz conectivo sometido, después de teñido por el carmín, al ácido acético diluído. - *a*, anillo de Henle.

Cuando una preparación de tejido laxo, precisamente coloreada por el picrocarminato, se trata por el ácido acético ó el clorhídrico muy diluídos en agua, los hacecillos adquieren aspecto homogéneo y se hinchan, menos en ciertos cuellos ó parajes circulares que resisten á la dilatación. Al nivel de tales estrangulaciones (fig. 180, *a*) aparecen ciertos anillos *(anillos de Henle)*, que exhiben color rojizo, y no ciertamente porque atraigan preferentemente el carmín, sino porque á su nivel hállase concentrado el material colágeno coloreado en rosa. Mucho se ha discutido la significación de los referidos anillos de Henle, que Ranvier observó también en el tejido conectivo fresco del edema. Tiende, no obstante, á prevalecer la opinión que los considera como refuerzos locales acintados é inextensibles de la membrana de cubierta fascicular.

Cemento ó materia intersticial. — Entre las hebras de cada fascículo hay un cemento semilíquido, soluble en el agua de cal, de barita, etc.; pero existe además otra materia intersticial, de consistencia líquida, poco acumulada, difundida por los vacíos ó lagunas interfasciculares, y la cual no es otra cosa que el

plasma de nutrición exudado de los vasos sanguíneos y destinado á la alimentación, no sólo de los corpúsculos conjuntivos, sino de las células de los tejidos activos inmediatos.

Fibras elásticas (fig. 179, F.). — Además de los haces conjuntivos, cruzan también la materia fundamental unas fibras especiales, de contorno puro, de gran refringencia y dotadas de noble elasticidad, á cuya propiedad deben el nombre de *fibras elásticas*. Nunca se disponen en hacecillos, sino que marchan sueltas en todas direcciones, cruzando los fascículos colágenos y trazando, ya simples flexuosidades, ya grandes revueltas, bien trayectos espiroideos. Permanecen incoloras en presencia del carmín, pero se tiñen por el ácido pícrico y muchas anilinas.

Las fibras elásticas son refractarias á la potasa y ácido acético, agentes que semidisuelven ó palidecen notablemente los haces colágenos. Merced á esta propiedad resulta empresa facilísima la demostración de dichas fibras en un preparado conectivo.

Las fibras elásticas se presentan bajo tres formas principales: 1.ª, como fibrillas independientes; 2.ª, en redes, y 3.ª, en membranas perforadas.

Las *fibrillas independientes* son finas, no ramificadas y sumamente flexuosas; habitan de preferencia el tejido conectivo del dermis y el intersticial de músculos y vísceras (figura 179, F).

Las *redes elásticas* se asocian igualmente al tejido conectivo de la piel y al de los músculos; pero su asiento preferente es la túnica media de las arterias y venas y los ligamentos amarillos de las vértebras.

En estos últimos ligamentos el tejido elástico domina sobre el conjuntivo, apenas representado por alguna célula y tal cual fascículo. Las fibras elásticas son espesas, se ramifican en ángulo agudo y engendran redes de mallas irregulares y angostas (figura 181, A).

Las *membranas perforadas* representan redes elásticas cuyas fibras han adquirido, por crecimiento en superficie, una anchura tal que las mallas se han reducido á simples agujeros.

Residen estas membranas en la túnica media de las gruesas arterias y en el límite externo de la *íntima* de las pequeñas.

Células. — Los elementos vivos y constantes del tejido conectivo son las llamadas *células fijas* ó *sedentarias;* menos constantemente y sólo en ciertas localidades orgánicas se hallan las *células emigrantes*, las *Mastzellen de Ehrlich*, los *clasmatocitos de Ranvier*, las *pigmentarias*, las *cianófilas* y las *enanas de protoplasma pálido.*

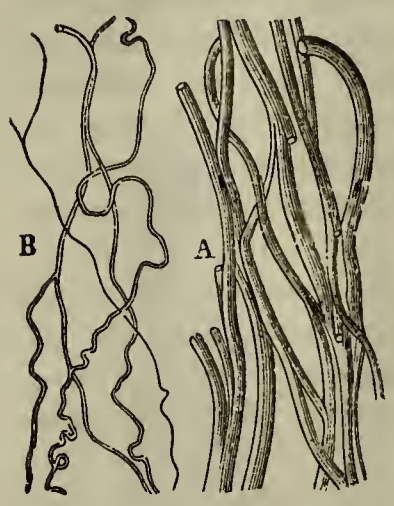

Fig. 181. — Fibras elásticas aisladas por el ácido acético. — A, gruesas redes elásticas de los ligamentos amarillos; B, finas redes del dermis cutáneo.

a) *Las células fijas* (fig. 179, C), llamadas también *fibroblastos* (Maximow), afectan forma de laminillas poligonales, cuyos ángulos se prolongan en largos apéndices frecuentemente anastomosados con los emanados de vecinas células (Renaut, Cajal). Muchos de estos corpúsculos se superponen á los haces cuya dirección siguen; otros aparecen sueltos en el interior de las lagunas conjuntivas.

Cada célula posee un núcleo aplanado, pobre en cromatina; un protoplasma laminar finamente granuloso y tan transparente hacia sus bordes, que cuesta trabajo discernirlo; y una membrana delicadísima que sólo con fuertes objetivos puede percibirse. Las caras son lisas, mostrando excepcionalmente las crestas de impresión señaladas por Ranvier (fig. 179, C, B). El método de Heidenhain muestra una pareja de centriolos no lejos del núcleo. Mediante el proceder argéntico de Golgi (formol, ácido arsenioso, etc.), Verson (1909) y Deineka (1912) han puesto de manifiesto un *aparato reticular* concentrado cerca del núcleo y hacia el origen de una expansión protoplásmica. Nosotros, así como Fañanás (1912) y Tello (1912), hemos impregnado muchas veces este aparato reticular en todos los elementos conectivos del conejo, perro y gato jóvenes. En la figura 184, *b,* mostramos la citada red (que á veces aparece

reemplazada por un conglomerado de gránulos y bacilos más ó menos ramificados) en los corpúsculos del dermis lingual del conejo adulto.

b) *Células emigrantes* (fig. 179, D, E). — Así se llaman unos elementos esféricos poco numerosos, de contorno áspero, que circulan libremente por las lagunas conjuntivas. Gozan de movimientos amiboideos y pasan por ser leucocitos sanguíneos ó lin-

Fig. 182. — Diversos tipos celulares del tejido conectivo intersticial de la glándula submaxilar del hombre. — A, pared de un vaso; B, célula cebada; C, célula cianófila; E, corpúsculo conectivo fijo; D, célula enana; *a*, parejas de células cianófilas.

fáticos emigrados. Algunos de ellos poseen un núcleo esférico y poco protoplasma (fig. 179, D); otros presentan un cuerpo más robusto (fig. 179, E) y un núcleo con gibosidades, como el de los leucocitos de la tercera especie (*polinucleados* de Ehrlich, leucocitos con núcleo vegetante).

c) *Células con granulaciones (Mastzellen,* es decir, *células cebadas* de Ehrlich). En algunas localidades orgánicas, de preferencia cerca de los epitelios y de los capilares y venas, mués-

transe unos corpúsculos gruesos, redondeados, ovoideos ó fusiforme, portadores de un núcleo pobre en cromatina, y cuyo protoplasma se caracteriza por contener numerosas granulaciones gruesas, esféricas, semejantes á micrococos, colorables por las anilinas básicas y por el método de Gram (fig. 182, B). La tionina las colora en rojo heliotropo, distinguiéndolas de la cromatina nuclear que se tiñe en azul. También el rojo neutro aplicado en fresco (animal recién sacrificado) las colorea intensamente (Arnold, Maximow, etc.). El método de Unna-Pappenheim las tiñe en rojo. Estas granulaciones son de naturaleza albuminoide, alterables en ácido acético é insolubles en alcohol y éter.

Se ignora la significación de las células de Ehrlich. Este autor suponía que dichos corpúsculos abundaban en aquellas partes, en donde por ser asiento de movimientos proliferativos, se produce sobrealimentación; pero los trabajos de Ballowitz y Bergonzzini (1893), los nuestros y de Calleja (1), echan por tierra esta interpretación, haciendo probable la opinión de que semejantes corpúsculos se hallan constantemente en ciertas localidades del tejido conectivo, variando sólo su distribución según las diversas especies de animales. En torno de las células cebadas se advierte, en ocasiones, una atmósfera circular, formada por una materia colorable por las anilinas básicas. Esta atmósfera prueba que la materia granular basiófila es susceptible de ser elimininada y disuelta en el plasma intercelular. Cerca del núcleo aparece un diplosoma (Maximow, 1906).

Según Maximow (1908), las células cebadas serían leucocitos modificados incapaces de transformarse en *fibroblastos.*

Las llamadas por Valdeyer *células del plasma,* residentes también cerca de los vasos y provistas de granulaciones interiores, corresponden probablemente á los corpúsculos de Ehrlich ó representan una variedad de los mismos. Las *células plasmáticas* de Unna constituyen, como luego veremos, una variedad especial.

Clasmatocitos (Ranvier).—Constituyen una variedad especial de células cebadas, provista de expansiones ramificadas y largas, que residirían abundantemente en el tejido conectivo de los urodelos. Las granulaciones, así como el protoplasma de la porción terminal de las expansiones, son susceptibles de disgregarse

(1) *C. Calleja:* Distribución y significación de las células cebadas de Ehrlich. *Rev. trim. micrógr.,* núms. 2 y 3, 1896.

(*clasmatosis*) en el plasma conjuntivo, fenómeno destructivo que ha valido á dichas células la designación que llevan.

En los mamíferos hállanse también estas células, pero con otros caracteres que en los batracios, caracteres que varían algo según los animales explorados. En general, trátase de corpúsculos fusiformes ó estrellados, de núcleo esférico, más pequeño que el de las células sedentarias, y provistos de un protoplasma pálido, sembrado de escasas y desiguales granulaciones amarillentas (Ranvier, Schreiber, Neumann, etc.). A menudo, tales granos constituyen acúmulos cerca del núcleo (Maximow, 1906). Dichas esferas, que afectan tamaño desigual y poseen acaso diversa composición química, coloréanse también en fresco por el rojo neutro (Maximow). Los clasmatocitos hállanse esparcidos por toda la trama conectiva, abundando más cerca de los vasos y en la vecindad de los epitelios.

Los trabajos modernos, y singularmente los de Maximow (1906), acerca de los clasmatocitos, prueban que Ranvier, descubridor de estos elementos, se equivocó al identificar los gruesos clasmatocitos de los batracios con los corpúsculos de igual nombre de los mamíferos. En realidad, los clasmatocitos de los batracios son legítimas *células cebadas* de Ehrlich, las cuales adoptan en estos animales figura fusiforme ó estrellada, poseen notable dimensión y gozan de la propiedad de liberar gránulos basiófilos que se disuelven en el plasma intersticial (estas son las partes del protoplasma que pueden estimarse autoseparables). Mientras que los elementos de igual nombre de los mamíferos constituyen en realidad una casta celular especial, algo así como una variedad de células con granulaciones, que carece de la propiedad de la *clasmatosis*.

Del origen y destino de los clasmatocitos, nada seguro cabe afirmar. Para Maximow, quien en diversas Memorias ha consagrado á tales corpúsculos un estudio minucioso (1906-1909), representarían linfocitos crecidos, evolucionados y caídos en inmovilidad, por pérdida del poder emigrador. De ahí el nombre que les da de *células emigrantes reposadas (Ruhende Wanderzellen)*. No obstante, durante la inflamación recobrarían su actividad amiboide y fagocitaria, aunque sean siempre incapaces de generar tejido cicatricial.

Renaut (1907) identifica las células cebadas de los mamíferos con los clasmatocitos de Ranvier, á pesar de los caracteres diferenciales señalados por Ranvier mismo y modernos histólogos. En su sentir, las células fusiformes y estrelladas descritas como clasmatocitos por

Ranvier en el epiplón del conejo, no serían otra cosa que el resultado de la transformación de un tipo celular específico, que Renaut bautiza con el nombre de *célula ragiocrina* (véase más adelante).

d) *Células pigmentarias* (fig. 183).—En el hombre sólo se encuentran estos corpúsculos en la coroides y el iris, y con gran rareza en el dermis de la piel y papilas pilosos. Poseen una forma en huso ó en estrella, y su cuerpo encierra multitud de granitos redondeados de melanina. No es raro ver sus apéndices anastomosados en red.

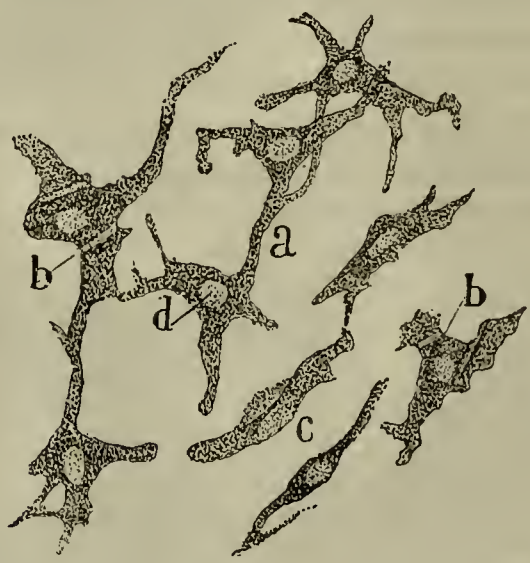

Fig. 183. — Células pigmentarias de la coroides del ojo humano. Las células aparecen vistas de plano. — *a*, puente intercelular; *b*, depresión lineal causada por haces conectivos; *c*, células vistas de canto.

Las células melánicas son muy abundantes y adquieren gran desarrollo en la piel y otros tejidos de los reptiles, batracios y peces. Por ejemplo, en el dermis de los batracios, estos corpúsculos alcanzan gran espesor, y sus ramificaciones protoplásmicas se dilatan en una extensa superficie, constituyendo con las de los vecinos corpúsculos una red pigmentaria difusa. El núcleo destaca del protoplasma moreno por carecer de granitos melánicos.

En los reptiles (camaleón), los peces y los cefalópodos, las células pigmentarias están en relación con fibras nerviosas terminales, equiparables á los tubos centrífugos ó motores (Brucke, Ballowitz). Re-

sulta, por tanto, que la contracción de tales elementos, en cuya virtud el animal imita el color del paraje en que se encuentra, constituye un acto reflejo; la vía aferente ó sensorial está representada por el nervio óptico. Según resulta de las experiencias de P. Ramón, efectuadas en el camaleón, dicho reflejo falta cuando la piel es cloroformizada, se destruye la médula espinal ó se cortan los filetes motores periféricos.

Las células pigmentarias son también abundantísimas en los batracios, donde pueden estudiarse en vivo con comodidad. Basta para ello fijar una rana en la platina del microscopio y explorar la membrana interdigital. En el seno de los tejidos transparentes presentes aparecerán á nuestro examen gran número de cromatóforos de color negro, especialmente concentrados en torno de los vasos y en el espesor del dermis y epidermis.

Si, á ejemplo de Eternod y Robert (1908), se somete dicha membrana interdigital, simultáneamente y por zonas, á la acción de la luz y á la de la obscuridad, se confirma el hecho del *nimetismo cromático*, ya señalado hace tiempo por Puchet en los peces, y estudiado por Fischel y Flemming en la salamandra, es decir, que la obscuridad produce un movimiento de *diástole* ó de extensión del pigmento, con lo que la piel se ennegrece, en tanto que la luz causa un movimiento de *sístole* ó de retraccion del pigmento, lo que se traduce por el aclaramiento tegumentario. El sístole es rápido, pudiendo reducirse á dos minutos; en cambio, el diástole demanda horas (Eternod). La ceguera de la rana, aboliendo todo reflejo visual, incapacita al animal para retraer los cromatóforos; la piel permanece, pues, indefinidamente obscura, aun en presencia de la luz. En caso de prolongarse la obscuridad muchos meses, los cromatóforos se atrofian según ha observado Ogneff (1908) en el axolote.

Células cianófilas.—Cerca de los epitelios, y particularmente en el dermis de la lengua y otras mucosas, en la trama intersticial de las glándulas salivares, etc., hállanse unos corpúsculos esféricos ú ovoideos, sin expansiones, con un núcleo esférico, frecuentemente excéntrico y provisto de un protoplasma vacuolado, coloreable uniformemente por las anilinas básicas, y singularmente por el azul de metileno. Por las transiciones observables entre tales elementos y los fijos, cabe conjeturar que las células cianófilas representan las formas jóvenes ó germinales de las células sedentarias (1).

(1) Véase Cajal: El estroma de las neoplasias. *Rev. trim. microgr.*, números 2 y 3, 1896.

Tales elementos, descubiertos independientemente por nosotros (1890) y Unna (1891), autor que les da el nombre poco afortunado de *células plasmáticas*, representan un factor normal del tejido conectivo, y no leucocitos emigrados, como suponen algunos autores. En ellos hemos sorprendido muchas veces fases mitósicas (fig. 182, *d)*. Indicio de esta multiplicación celular son las parejas de corpúsculos cianófilos que se tocan por una de sus caras (fig. 182, *a)*. No es raro ver los cabos distales de tales parejas modelarse en apéndice *(b)*, semejando uno de los brazos polares de la célula conectiva sedentaria.

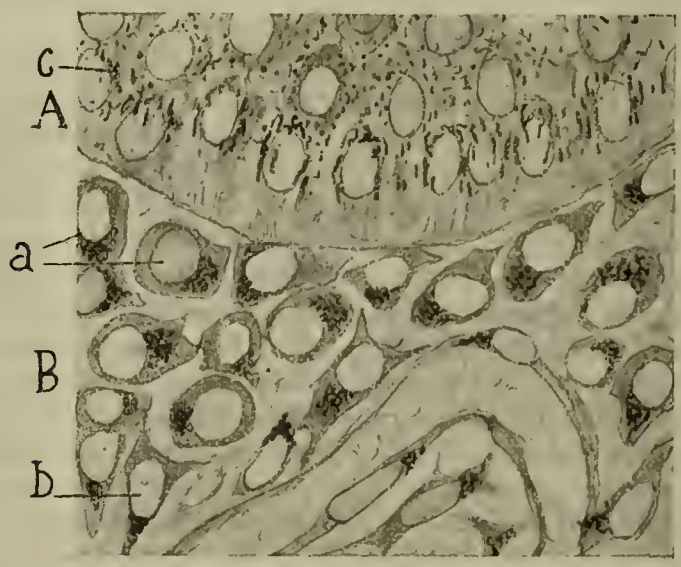

Fig. 184. — Trozo de la mucosa lingual del conejo adulto. — A, epidermis profundo con el aparato de Golgi disperso y en forma de bacilos; B, dermis papilar, cuyos elementos cianófilos y fibroblastos ofrecen un retículo bien caracterizado; *b*, fibroblasto; *a*, corpúsculos cianófilos. (Proceder de impregnación del urano-formol).

Las células cianófilas poseen un aparato reticular de Golgi bien desarrollado, según mostramos en la figura 184, *a*, donde reproducimos numerosos *corpúsculos del plasma* del dermis lingual del conejo.

Células enanas ó de protoplasma pálido.—Nuestras investigaciones ya antiguas (1895) sobre la trama conectiva de las neoplasias, nos persuadieron de la existencia constante de unos elementos diminutos, esferoidales ó poliédricos, provistos de

protoplasma escaso é incolorable por las anilinas y de un núcleo globuloso rico en cromatina (fig. 182, D). Semejantes células, menos abundantes que los corpúsculos cianófilos, no faltan nunca en el tejido conectivo normal é intersticial de las glándulas, en el dermis de las mucosas y piel, y, aunque en menos cantidad, en la trama conectiva subcutánea é intermuscular. Verosímil-

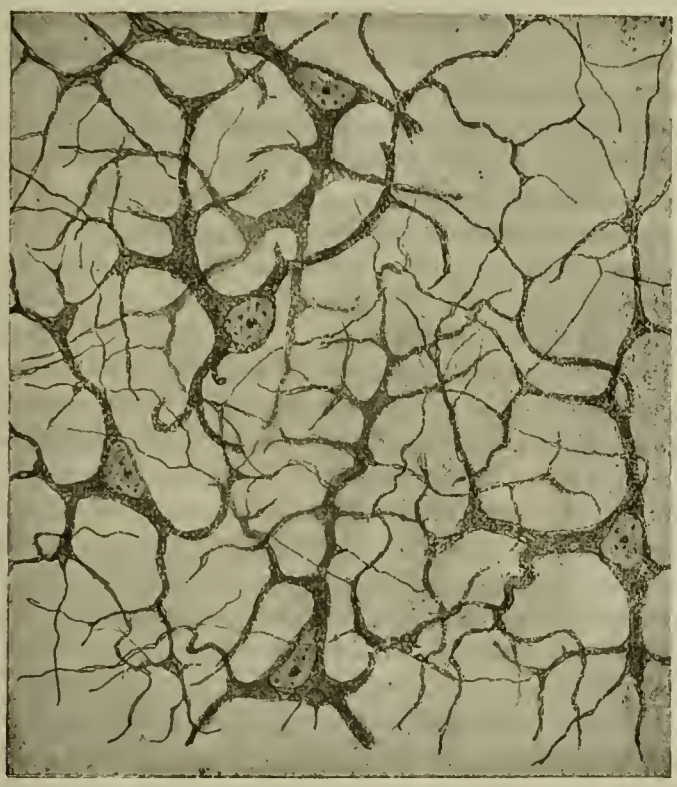

Fig. 185. — Células conectivas estrelladas del tejido conectivo intermuscular de la cola del renacuajo. Impregnación del nitrato de plata reducido.

mente, según consignamos en otro trabajo, estos elementos diminutos representan las formas más jóvenes *(cianofiloblastos)* de los corpúsculos cianófilos. Multiplícanse por mitosis y forman acúmulos considerables en la trama de las neoplasias, y, en general, en toda substancia conectiva en vías de regeneración. Por los demás, los elementos enanos han sido señalados recientemente (1907) por Maximow, que los considera, sin pruebas, como linfocitos, asignándoles propiedades amiboides.

Algunos autores añaden todavía otras especies celulares menos comunes. Tales son: las células emigrantes con bastoncitos eosinófilos, hallados por Maximow (1907) en el tejido conectivo del ratón, rata y cobaya y semejantes á los leucocitos del mismo tipo; y las células *ragiocrinas,* de Renaut (1908), corpúsculos estrellados anastomóticos, abundantes en la vecindad vascular, que gozarían de la propiedad de presentar numerosas vacuolas coloreables en vivo por el rojo neutro, vacuolas en cuyo interior morarían especiales productos de secreción. De la descripción de Renaut se deduce que sus células ragiocrinas no son una especie corpuscular nueva, sino que representan una fase evolutiva del corpúsculo fijo ó fibroblasto, ya que, según dicho sabio, todos los elementos del tendón (rata), así como los fibroblastos del tejido conectivo laxo del gato, presentan caracteres de ragiocrinos durante las semanas siguientes al nacimiento, para perder dicha cualidad en cuanto alcanzan la fase adulta.

Tejido conectivo de los invertebrados y vertebrados inferiores.— En el tejido conectivo de los invertebrados encontramos también células conectivas fijas y emigrantes, así como una materia fibrilar comparable á los haces colágenos de los vertebrados. Pero además pueden hallarse tipos celulares sin representación ostensible en los animales superiores. Tales son, por ejemplo, las *células de Leydig,* corpúsculos gigantes vesiculosos, rellenos de reservas alimenticias y señaladamente de substancias glicógenas, los cuales habitan en el mesenquima de los moluscos, crustáceos, decápodos, insectos, etc.

En las formas larvares de los vertebrados inferiores es común hallar una trama conectiva construída exclusivamente por las expansiones de células estrelladas, complejamente ramificadas. Tal es, por ejemplo, el tejido conectivo subcutáneo é intermuscular de la cola del renacuajo que reproducimos en la figura 185, en la cual puede apreciarse, merced á la coloración del nitrato de plata, un principio de fibrilación ó de transformación en hacecillos, de las expansiones celulares. Repárese también que, al nivel de algunas dicotomías, los citados apéndices presentan verdaderos kiasmas de hebras entrecruzadas sumergidas en un material protoplásmico finamente granuloso. También en los peces jóvenes aparece esta variedad conjuntiva, que representa, según veremos más adelante, una de las fases evolutivas del tejido conectivo laxo de los mamíferos. Por excepción, sin embargo, encontramos en el tejido perilinfático del laberinto de los mamíferos adultos una muestra de dicho tejido reticular.

VARIEDADES CONJUNTIVAS (FIBROSA, CORNEAL, CITÓGENA, ELÁSTICA, RETICULAR Y MEMBRANOSA)

Tejido conjuntivo fibroso. — Constituye la trama principal de los tendones, ligamentos y aponeurosis. Es duro, nacarado, y poco extensible. La disociación lo descompone fácilmente en haces paralelos (fig. 186).

Consta este tejido de fascículos y células. Los *fascículos* son espesos, larguísimos (tanto como el órgano que engendran), perfectamente paralelos, y de curso flexuoso ó en zig-zag, que se convierte en rectilíneo, cuando aquéllos son estirados por disociación.

Las *células* (fig. 185, *a)* forman series paralelas que ocupan los intersticios lineales de los fascículos; su forma es la de láminas cuadrilongas, de bordes irregulares y de caras lisas, de las cuales arranca á menudo una cresta penetrante en el intersticio fascicular inmediato *(cresta de impresión* de Ranvier); sus extremos tocan, por lo común, los de las células vecinas de la misma serie, y sus bordes, más ó menos estirados en apéndices, acaban libremente entre los fascículos. Las células profundamente situadas en el interior del haz secundario pueden poseer dos y más crestas de impresión (fig. 189, B, D).

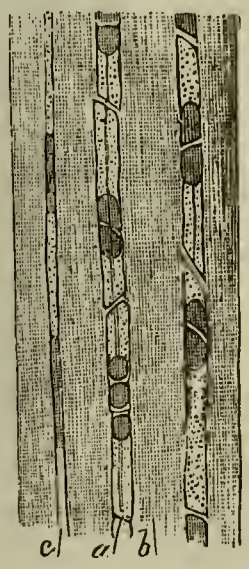

Fig. 186. — Un haz secundario estirado de la cola de ratón. — *a*, hilera de células; *b*, haz conectivo.

Para formar idea de la verdadera disposición de las células, es preciso estudiar comparativamente los cortes longitudinales y transversales de un tendón. En los longitudinales, tales corpúsculos afectan forma de laminillas provistas de uno ó más espesamientos protoplásmicos lineales que ocupan la misma posición en toda la fila celular. Nótese que muchas células se tocan por sus cabos, mostrando una verdadera articulación transversal (fig. 186). No es raro hallar parejas con

sus núcleos próximos á la superficie de contacto, disposición reveladora de que ambos elementos proceden de la segmentación de un corpúsculo progenitor (fig. 186). Pero la palidez excesiva del contorno lateral del protoplasma impide apreciar con certeza la extensión de las expansiones celulares y la forma real del corpúsculo tendinoso. Esta forma se revela muy bien en los cortes transversales (fig. 187, B). En ellos se nota que dicho corpúsculo exhibe varias prolongaciones laminares divergentes (tres, cuatro ó más) que rodean los hacecillos, llegando á menudo á tocar los apéndices de los vecinos elementos. El núcleo muestra á menudo sección triangular y aun disposiciones lobuladas para acomodarse á los intersticios interfasciculares. En fin, un líquido plasmático poco abundante rellena estos intersticios. Células cebadas y cianófilas no aparecen.

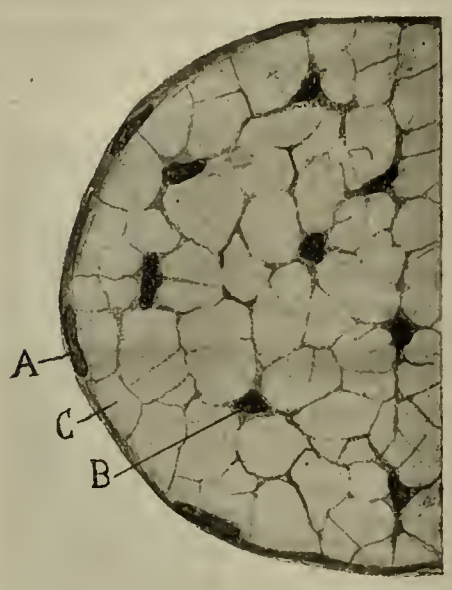

Fig. 187. — Corte transversal de un fascículo secundario de los tendones de la cola del ratón.—A, endotelio; B, célula fija; C, fascículo primitivo.

Fascículos primarios y secundarios. — Los haces entre los cuales se alinean las células corresponden exactamente á los hacecillos del tejido conectivo laxo y toman el nombre de *fascículos primarios* (fig. 187, C).

Los fascículos primarios se reunen en un grupo más ó menos numeroso, individualizados y protegidos por una cubierta endotelial, constituída por células poligonales laminares, análogas á las de las serosas y fácilmente revelables por el nitrato de plata (figs. 187 y 189, A). Estos son los *fascículos secundarios*. Esta cubierta endotelial, bien perceptible en los finos tendones de la rana y del ratón, nos parece faltar en los haces secundarios de los recios tendones de los mamíferos. En éstos la indivi-

dualización se efectúa á favor de tabiques separatorios de tejido conectivo laxo.

Por último, la agrupación de varios haces secundarios da origen al *tendón* ó *ligamento* propiamente dicho, que á su vez está rodeado por una túnica de tejido conjuntivo laxo, rico en vasos sanguíneos. Esta cubierta envía tabiques, provistos también de capilares, al espesor del tendón, es decir, á los huecos resultantes entre los haces secundarios. En tales tabiques se encuentran á veces células cebadas y corpúsculos cianófilos.

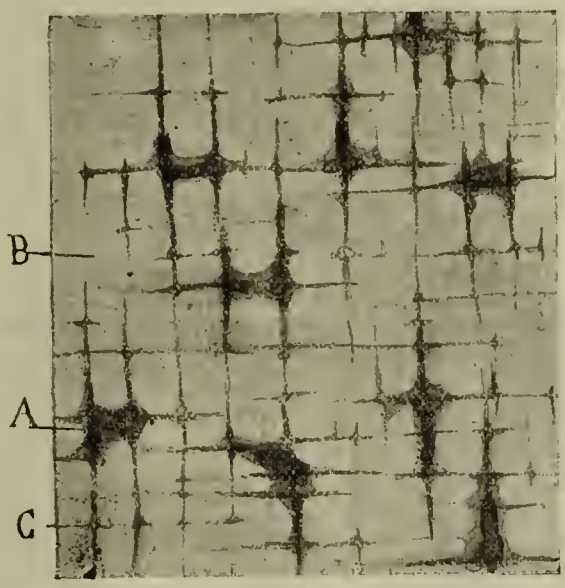

Fig. 188. — Trozo de la aponeurosis femoral de la rana vista de plano y coloreada por la hematoxilina. — A, cresta nuclear; B, haz conectivo; C, expansión celular con ramas en ángulo recto.

Aponeurosis. — Ofrecen algunas diferencias estructurales con relación al tendón. Por lo que hace á los fascículos, importa notar que no marchan en una misma dirección, sino que se disponen en capas alternadas y entrecruzadas en ángulo recto. Como mostramos en la figura 188, que representa el objeto clásico de las observaciones de Ranvier (la aponeurosis femoral de la rana) á través de un primer plano de haces longitudinales, vislúmbrase otro plano profundo de fascículos transversales.

Tocante á las células, repárese que, en vez de formar series, se diseminan irregularmente entre los planos de hacecillos, afec-

tando forma estrellada y expansiones dicotomizadas en ángulo recto (fig. 188, A). Esta manera de ramificación representa una acomodación á la dirección de los intersticios de ambos planos fasciculares limítrofes. Adviértanse, además, las crestas de impresión, á menudo cruzadas en ángulo recto, mostradas por las caras de la célula, así como por los espesamientos de las expansiones. En fin, llaman también la atención las deformaciones del núcleo, que se dobla y retuerce, presentando á veces lóbulos y verdaderas crestas para adaptarse á los espacios interfasciculares. En torno de la aponeurosis yace, como en derredor del tendón y del ligamento, una cubierta de tejido conectivo laxo.

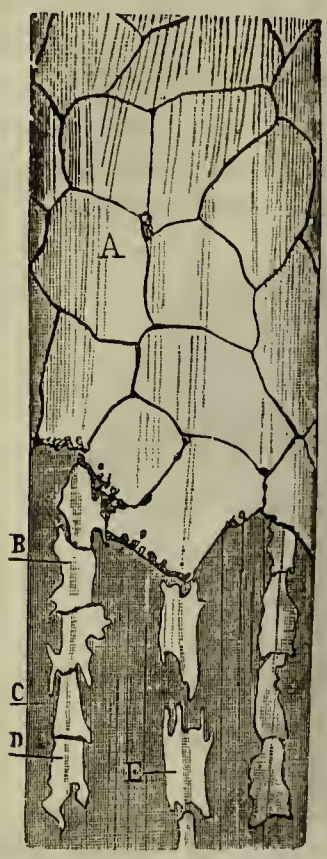

Fig. 189. — Haz secundario de los tendones de la cola del ratón. Coloración por el nitrato de plata. — A, células endoteliales; B, células dispuestas en serie; C, haz conectivo coloreado en castaño por el reactivo; D, cresta de impresión de las células; E, célula suelta.

Tejido conjuntivo citógeno. — Reside esta variedad en los folículos linfáticos de los ganglios, en el bazo, placas de Peyero y órganos linfoides. Consta también de hacecillos y células.

Los *hacecillos* (fig. 191, B) son sumamente finos (de 2 á 3 μ), pálidos y dispuestos en red, cuyas mallas son poligonales y tan estrechas, que en ellas caben solamente tres ó cuatro células. Los filamentos colágenos constitutivos de cada haz, se perciben menos bien que los del tejido conjuntivo laxo, y al nivel de las nudosidades se ven pasar aquéllos de un fascículo á otro, sin nacer ni terminar en ningún punto. Como ya observaron Ranvier y Bizzozero, estos haces son totalmente independientes de las células. En la figura 190, tomada de Achúcarro, mostramos detalles de la forma y dimensión de tales hacecillos (que adquieren color intenso con el proceder del tanino-plata) en

la trama de los corpúsculos de Malpigio del bazo. Las células son de dos clases: *fijas* ó *laminares* y *leucógenas* ó *emigrantes*.

Las *leucógenas (leucoblastos* de Lœvit) son esféricas ó poliédricas, alcanzan tamaños diversos y muestran, á menudo, fases mitósicas. Ocupan estas células, reunidas en paquetes apretados, todo el hueco de las mallas conjuntivas, y en cuanto acaban su evolución, ganan los espacios cavernosos recorridos por la linfa, y entran en circulación convertidas en leucocitos.

Fig. 190. — Haces conectivos del corpúsculo de Malpigio del bazo. (Proceder de Achúcarro).

Las *fijas* ó *sedentarias* (fig. 191, C) poseen forma de laminillas ténues, portadoras de un núcleo; hállanse íntimamente adheridas á los hacecillos, particularmente al nivel de las nudosidades. (Para más detalles, véanse *ganglios linfáticos)*. Las masas citógenas carecen de células de Ehrlich, que moran, sin embargo, en los tabiques conectivos y cápsula del ganglio.

Variedad reticular. — Aparte la trama colágena común, formada de recios haces, coloreables por las anilinas ácidas, encuéntrase en ciertos órganos musculares y glandulares una urdimbre delicadísima peri ó intercelular, compuesta de hebras y haceci-

llos sutilísimos, organizados en retículo de angostas mallas, poco ó nada coloreable por las anilinas ácidas y singularmente ávido de la plata coloidal. Semejante trama aparece en el dermis de la mucosa intestinal, en los intersticios de los lobulillos hepáticos, en torno de las fibras cardíacas (Achúcarro y Calandre), en la glándula pineal, en la adventicia de los capilares cerebrales, en los espacios interlobulares del riñón, en la glándula suprarrenal,

Fig. 191. — Tejido citógeno de un ganglio linfático. Las células de las mallas han sido desprendidas por el pincel. — A, capilar sanguíneo; B, haces colágenos finos; C, célula conectiva vista de borde; D, células linfáticas ó leucoblastos alojados en las mallas de la red.

médula del hueso y otros muchos órganos. Como ejemplo de esta delicada malla inter ó pericelular, mostramos en la figura 192 el retículo que Achúcarro, confirmando y ampliando la descripción de Mall, ha logrado impregnar en los lobulillos hepáticos.

En estos últimos años se ha hecho un estudio cuidadoso del tejido reticulado, habiéndose demostrado que sus fascículos, aunque respondan á las propiedades esenciales de los colágenos ordinarios, poseen algunos atributos que le son propios. Como Siegfried ha hecho notar, la substancia de que se componen (*reticulina* de este autor) no da gelatina por la cocción, se disuelve en caliente por el agua al-

calinizada y resiste á la digestión pépsica y trípsica. Las especiales aptitudes tintóreas de dichos fascículos han sido reveladas por Mall, que los ha coloreado por un método especial, tanto en los ganglios linfáticos como en el bazo, riñones, vesículas pulmonares, mucosa intestinal, etc., demostrando así que las citadas redes de hilos y finos fascículos hallados en el tejido citógeno no son exclusivas de éste, sino que se las encuentra, con importantes variantes, en el dermis de las mucosas y en la trama intersticial de los parénquimas glandulares.

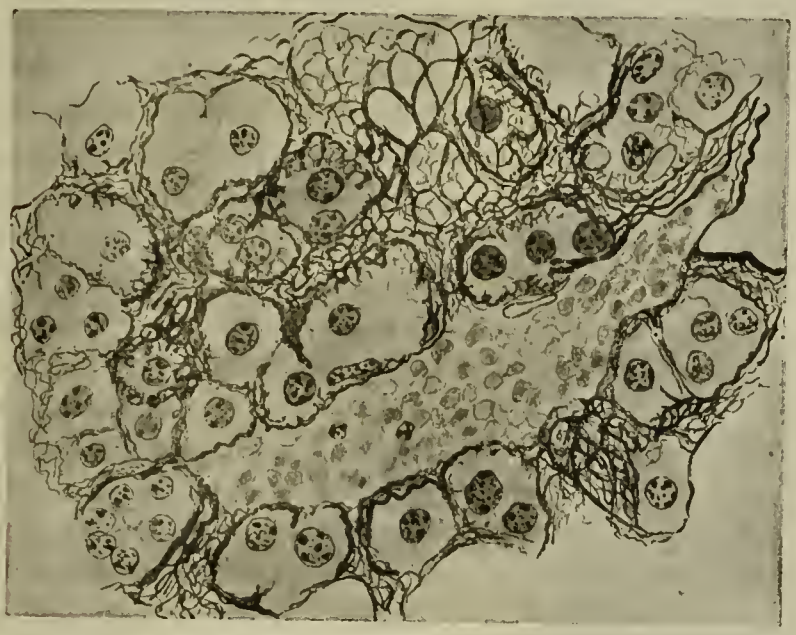

Fig. 192. — Trozo de un lobulillo hepático del hombre. Nótese entre las células glandulares y en torno de vasos, una urdimbre de fibras finas anastomosadas. (Dibujo y preparación de Achúcarro. Proceder al tanino y plata amoniacal).

Los resultados de las investigaciones de Mall y Siegfried han sido comprobados por nosotros á favor de una fórmula especial del método del nitrato de plata reducido (fijación en formol sólo ó en la mezcla de formol-acetona, seguida de endurecimiento en el alcohol amoniacal). En presencia de la plata coloidal, los haces del tejido citógeno se tiñen pardo rojo, casi negro, mostrando redes de gran complicación y finura, mientras que los manojos conectivos ordinarios apenas muestran apetencia por el depósito metálico, presentándose de color amarillento.

Esta propiedad del tejido reticular de reaccionar, de un modo especial, con la plata coloidal, ha sido comprobada estos últimos años

por C. Ciaccio (1908), que ha estudiado la trama reticular del bazo; por Alagna (1908), que ha explorado las tonsilas; por Balabio (1908), cuyas investigaciones han recaído en los ganglios linfáticos, y sobre todo por Achúcarro (1912), que ha analizado el tejido reticular, gracias á la exquisita electividad de su método, en un gran número de parénquimas glandulares.

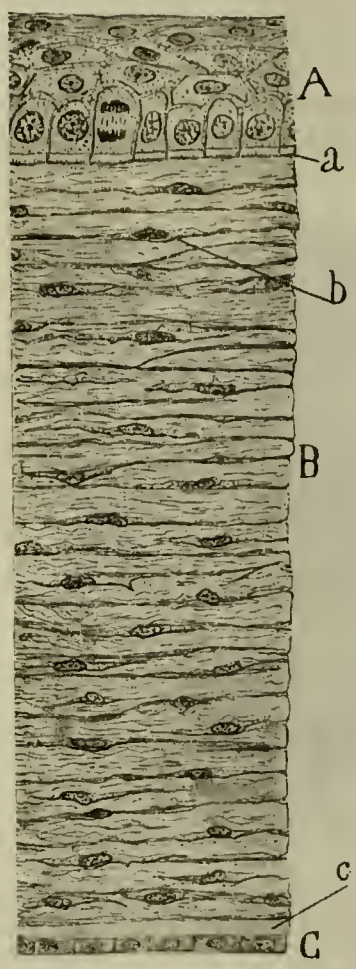

Fig. 193. — Corte perpendicular de la córnea del conejo. A, capa epitelial anterior; B, capa conectiva; C, capa endotelial ó membrana de Descemet; *a*, chapa basal del epitelio; *b*, células corneales vistas de canto; *c*, membrana basal posterior.

Variedad elástica. — Las fibras elásticas acompañan, según dejamos dicho, al tejido conectivo laxo; pero á veces adquieren tal abundancia y dominan de tal suerte sobre el factor colágeno compañero, que imprimen carácter especial á la trama. Tal sucede con los ligamentos amarillos intervertebrales y con el llamado *ligamento cervical posterior* ó *suspensor* de la cabeza de muchos mamíferos, donde las fibras elásticas alcanzan desusado espesor y constituyen redes notablemente densas. Entre la *variedad conectiva elástica* puede asimismo contarse el tejido de la túnica media de las arterias gruesas, donde, á más de fibras anastomosadas, se contienen series consecutivas de membranas elásticas fenestradas.

Variedad corneal (fig. 193). — La córnea, membrana tansparente del segmento anterior del globo ocular, consta de varias capas, que son, de delante á atrás: el *epitelio corneal anterior*, formado de varias hileras de células poliédricas; la *zona conjuntiva*, de textura fibrosa, y la *capa endotelial* ó epitelio corneal posterior. La zona más espesa y verda-

deramente característica de la córnea es la conjuntiva, cuya estructura vamos á exponer sucintamente (fig. 193, B).

La capa conjuntiva de la córnea encierra las siguientes partes: láminas conectivas, células fijas y emigrantes y lagunas ó conductos de Bowman.

Láminas. — La córnea se compone de una serie de láminas concéntricas, paralelas, cada una de las que resulta del adosamiento de hacecillos conjuntivos finos, de hebras delicadísimas é invisibles en estado fresco. Los cortes antero-posteriores de la córnea permiten reconocer que en cada lámina la orientación

Fig. 194. — Células fijas de la córnea de la rana coloreadas por el cloruro de oro.

de los hacecillos es perpendicular á la de los constitutivos de láminas limítrofes. Fascículos oblícuos cruzan los espacios plasmáticos que separan las láminas, poniendo en comunicación recíproca la trama conectiva de éstas. En la córnea de la rana, como Ranvier ha demostrado, aparecen ciertas fibras perforantes que cruzan perpendicularmente las hojas conectivas, asegurando su cohesión.

Conductos de Bowman. — Cuando se inyectan con aire ó azul de Prusia los espacios separatorios de las laminillas, se ve que éstos forman una vasta red de anchos y cavernosos trabéculos, por donde circula ampliamente el plasma. Semejantes huecos

han tomado el nombre de conductos de Bowman, y se consideran homólogos á las lagunas del tejido conectivo. Los conductos de un espacio interlaminar comunican, á favor de aberturas labradas en las láminas, con los situados en planos más posteriores ó anteriores.

Células fijas. — Son unos corpúsculos estrellados, aplastados de delante á atrás, situados entre las láminas conjuntivas, precisamente en las amplias confluencias de los conductos de Bowman. De sus caras brotan crestas de impresión, que se ajustan á los intersticios de las láminas limítrofes; y de sus bordes nacen numerosas expansiones, ramificadas en ángulo recto y anastomosadas con las de corpúsculos vecinos (fig. 194). Como los hacecillos de cada lámina son perpendiculares á los de la vecina, las crestas de impresión de los corpúsculos fijos tienen también en las caras de éstos direcciones cruzadas, como puede verse en la figura 194. Dichas crestas pueden brotar hasta de los mismos apéndices ramificados.

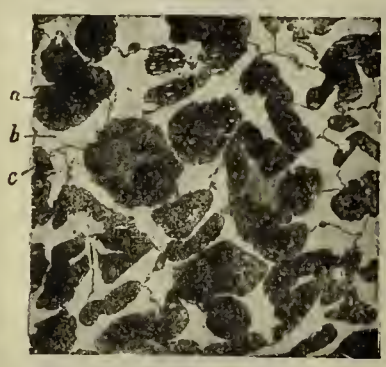

Fig. 195. — Células de la córnea del gato coloreadas por el nitrato de plata (imagen negativa).— *a*, substancia fundamental; *b*, célula; *c*, punto de contacto entre dos células.

En estado fresco, son invisibles las células de la córnea: el carmín denuncia sus núcleos, pero sólo el cloruro de oro y nitrato de plata ponen de manifiesto el protoplasma y sus ramificadas expansiones: el cloruro de oro impregna el cuerpo celular de violado intenso *(imagen positiva)*; mientras que el nitrato de plata tiñe exclusivamente el fondo conjuntivo, reservando en blanco el protoplasma y todos sus apéndices *(imagen negativa)*. También el nitrato de plata reducido da una excelente imagen positiva de las células que se muestran teñidas en café más ó menos obscuro. En algunos animales, el gato por ejemplo, las células corneales se tocan por sus apéndices ó por sus cuerpos, formándose articulaciones bien visibles en los preparados del nitrato de plata (fig. 195, *c*). En fin, el método del

formol-urano (impregnación argéntica) revela en un lado del protoplasma un aparato reticular de Golgi bien desarrollado, primeramente descrito por Deineka (fig. 196).

Células emigrantes. — Cuando se examina en fresco, y por su cara posterior, la córnea de la rana, no tardan en advertirse unos corpúsculos irregulares, á menudo alargados, con numerosas expansiones pálidas, que no son otra cosa que leucocitos emigrados. Casi todos ellos pertenecen á la variedad de núcleo con gibosidades ó de núcleo múltiple; y en las lagunas corneales donde circulan, muévense muy activamente, pudiendo sor-

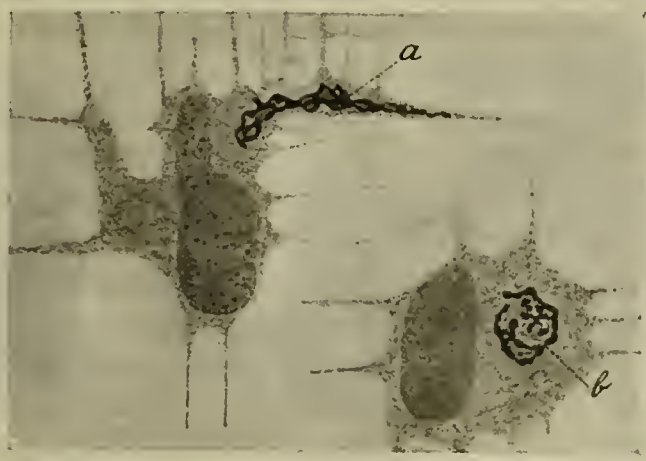

Fig. 196. – Dos células fijas de la córnea del caballo, examinadas de plano. *a, b,* aparato reticular de Golgi situado en la acumulación máxima del protoplasma. (Tomada de Deineka).

prenderse cómo, por virtud de sus contracciones amiboides, se estiran y deforman, embutiéndose en resquicios estrechísimos, para pasar de un espacio interlaminar á otro. Las células conectivas fijas no son visibles en la córnea viva y no cabe, por consiguiente, confundirlas con las emigrantes.

Como las observaciones de C. Calleja han puesto de manifiesto, la trama principal de la córnea no posee células de Ehrlich; sólo se encuentran en la periferia de dicho órgano, en su unión con la esclerótica.

Variedad membranosa ó areolar.— Así se llama el tejido conectivo laxo, cuando sus haces se adosan para formar membranas delgadas revestidas por endotelio.

De esta variedad están construídos los repliegues de las serosas, y particularmente el mesenterio y el epiplón (véase más adelante el *tejido seroso)*.

Propiedades químicas del tejido conjuntivo. — Los hacecillos conjuntivos están formados principalmente por la *colágena*, substancia insoluble en agua y alcohol, que se hincha en el ácido acético, se disuelve en caliente en los álcalis, se digiere por la pepsina y ácido hidroclórico, pero no por la tripsina. La ebullición prolongada la convierte en gelatina. Las sales metálicas y el tanino endurecen y encogen la colágena, formando substancias imputrescibles. Sobre esta propiedad se basa la industria del curtido de las pieles. Los hacecillos conectivos son insolubles en agua, alcohol, líquidos salinos, ácidos y álcalis diluídos. En presencia de las anilinas ácidas (fuchina ácida, eosina, orange, etc.) se colorean intensamente. Los haces conectivos jóvenes tíñense menos intensamente por los colorantes ácidos.

Las fibras elásticas constan de *elastina,* substancia que les presta su gran resistencia á los ácidos y álcalis. Esta materia es un producto albuminoide, puesto que da la reacción xantoprotéica y la de Millon, y se transforma en peptona (peptona de la elastina) por la digestión artificial. Es insoluble en agua, alcohol y éter; pero los álcalis calentados la disuelven lentamente. La ebullición con los ácidos diluídos la transforma en peptona. El ácido pícrico, algunas anilinas básicas y, sobre todo, el reactivo de Weigert (véase la técnica del tejido conectivo), tiñen intensamente las fibras elásticas.

Propiedades fisiológicas.—La pobreza relativa en células, y el predominio notable de la substancia fundamental, denotan que el tejido conectivo goza de poca actividad funcional. Su utilidad orgánica proviene precisamente de su pasibilidad y de sus propiedades físicas, las cuales (elasticidad, extensibilidad) le prestan condiciones adecuadas para unir y proteger los órganos movibles. Pero el principal papel que desempeña es la absorción de los líquidos nutritivos, para difundirlos hasta los elementos activos de los tejidos con quienes ordinariamente se asocia.

Los elementos fijos parecen tener por principal oficio segregar

una materia capaz de convertirse en haces conjuntivos, y acaso también en las fibras elásticas.

En cuanto á las células cebadas de Ehrlich, las observaciones de C. Calleja y nuestras permiten suponer que representan glándulas monocelulares errantes destinadas á segregar algún producto espécial soluble en el plasma intersticial donde moran las células fijas, y dotado, acaso, ora de propiedades alimenticias, ora de poder bactericida.

Tocante al papel desempeñado por los corpúsculos pigmentarios nada se sabe, salvo la propiedad defensiva del *mimetismo cromático* (camaleón, rana, axolote, etc.) de que hemos tratado

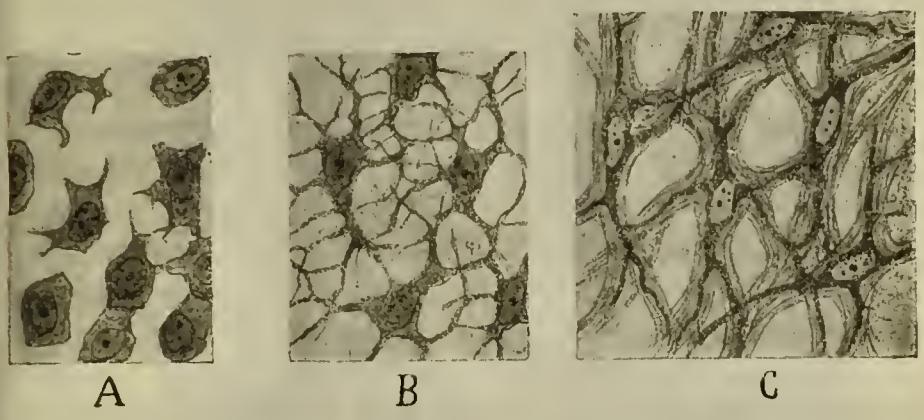

Fig. 197. — Fases esquemáticas de la evolución del tejido conectivo. — A, tejido conectivo primordial; B, tejido conectivo reticulado ó mucoso; C, tejido conectivo joven.

más atrás, propiedad sólo reconocible en los vertebrados inferiores. De los cromatóforos de los mamíferos, no más los de la retina han conservado la virtud de transformarse bajo la influencia de la luz.

Histogénesis.—El tejido conjuntivo pasa por varias fases evolutivas, que pueden calificarse: *Tejido conectivo primordial, tejido mucoso, tejido conectivo joven* y *tejido conjuntivo adulto.*

1.° *Tejido conectivo primordial.*—En las primeras diferenciaciones conjuntivas del mesodermo, así como en los rudimentos de huesos y cartílagos, la trama histológica es extremadamente simple, reduciéndose á células estrelladas ó poliédricas con algún apéndice corto, de núcleo relativamente voluminoso, y separa-

das por escasa cantidad de materia fundamental hialina, sin señales de mucina ni de colágena. Las mitosis celulares son abundantes (fig. 198, *a, b)*. En fin, en muchas células las expansiones crecen, se ramifican en ángulo recto y se anastomosan con las de vecinos elementos (fig. 197, A). En esta fase, el protoplasma encierra grumos basiófilos y acidófilos (Maximow, 1908). Por este tiempo (embrión de pollo del segundo al cuarto día) se diferenciarían en el mesodermo las primeras células emigrantes (células de Saxer). Según Maximow (1908), éstas harían su aparición en el embrión de conejo al noveno día.

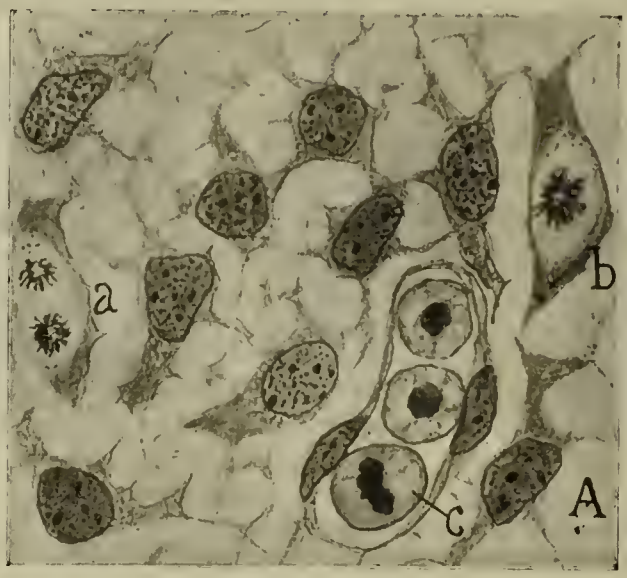

Fig. 198. — Células conectivas del mesodermo en un embrión de conejo de 8 milímetros. — A, célula conjuntiva estrellada; *a, b,* otras en vías de mitosis; *c,* hematíe nucleado en vías de proliferación.

2.° *Tejido conjuntivo mucoso.* — Más adelante, la substancia intersticial se acrecienta, y en ella aparece la mucina. Las células adquieren mayor tamaño, se apartan unas de otras y afectan forma en huso ó estrellada, cuyas largas expansiones protoplásmicas se ramifican repetidamente, dando origen á una red complicada (fig. 197, B).

3.° *Tejido conjuntivo joven.* — Alrededor de las células y de sus largos apéndices anastomosados, depositanse delgados hacecillos conectivos, que aumentan sucesivamente en espesor y se

continúan entre sí formando redes y plexos difusos. Las lagunas conectivas se estrechan á consecuencia del crecimiento de los haces, y la mucina desaparece, siendo sustituída por un líquido plasmático. Ulteriormente surgen en la materia hialina intersticial, y en virtud de un mecanismo desconocido, las fibras elásticas. Las células no engendran directamente ni los haces conectivos ni las fibras elásticas; se supone, sin embargo, que no son ajenas á la construcción de unas y otras, pues segregarían una materia que, en presencia del plasma intersticial, se coagularía, ya en hebras colágenas, ya en fibras elásticas. En pro de esta intervención, habla el hecho de aparecer siempre los haces conectivos junto á los corpúsculos embrionarios, y precisamente en la misma dirección de los apéndices protoplásmicos.

Esta fase evolutiva es la que se muestra en el cordón umbilical, donde las redes celulares están revestidas por depósitos de hacecillos, conservándose todavía vastas lagunas plasmáticas, ricas en mucina (fig. 197, C).

Fig. 199. — Aparato de Golgi del tejido conectivo embrionario (mesodermo) de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. — A, aparato reticular del ectodermo; B, aparato reticular de los fibroblastos.

La opinión que dejamos consignada acerca del modo de formación de los haces conectivos es la de Ranvier, confirmada por numerosos autores. Existen, no obstante, disidentes. Así, Flemming (1891) supuso que las fibrillas aparecen primeramente dentro del protoplasma celular, en la región cortical del fibroblasto, dictamen aceptado, con ligeras variantes, por Hansen (1899). Para Meves (1910) y Duesberg (1912), las fibrillas colágenas, como las miofibrillas y neurofibrillas, resultarían de la transformación y emancipación ulterior de las mitocondrias. Por su parte, Heidenhain (1911), fiel en principio á la concepción de Flemming, imagina las fibras colágenas elaboradas en la corteza protoplásmica del

fibroblasto, al modo como las fibras neuróglicas en la concepción de Held; pero haciéndose libres después y creciendo independientemente. Una transición entre ambos estados, intracelular y emancipado, representarían los filamentos y redes del tejido reticular, los cuales hallaríanse sumergidos en pleno protoplasma. También Ranke (1913) ha defendido para esta modalidad conectiva, coloreable por el método de Achúcarro, la concepción *syncytial* de la neuroglia de Held, admitiendo que las hebras anastomóticas hállanse empotradas en expansiones celulares. Mall (1901) extremó, si cabe, todavía esta tesis, considerando la materia intercelular hialina en que se diferencian las fibras como substancia viva continuada con la célula, es decir, como un verdadero *exoplasma*. Otros sabios asienten á la doctrina de Ranvier, pero puntualizan mejor algunos detalles. Laguèsse (1903) supone que la formación fibrilar sobreviene en el seno de un material pericelular que cabría considerar como citoplasma químicamente diferenciado y ulteriormente separado. Para Disse (1908), esta materia pericelular sería al principio amorfa, fibrilándose después sin intervención del protoplasma. En fin, Schaffer y Dubreuil (1912) sostienen la creación intercelular de los haces colágenos sin intervención de las mitocondrias ni de la capa cortical del protoplasma.

Con relación al origen de las fibras elásticas existen todavía dudas, no disipadas aún por las novísimas investigaciones. Tiende, sin embargo, á prevalecer la idea de que la fibra elástica resulta de la transformación de un tipo celular especial, abundante durante la época fetal en los ligamentos amarillos y cervical posterior de los animales, y designado *elastoblasto*. Se supone que tales elementos, que son fusiformes y delgados, generan la fibra elástica por una especie de metamorfosis protoplásmica que se iniciaría en sus polos, desde los cuales crecería progresivamente hasta producir redes complicadas. Como Ranvier, Reinke y otros han hecho notar, en su primitivo estado, dichas fibras están representadas por series de granos que se alinean y funden ulteriormente.

Conjetura de las inobionas. — La singular propiedad poseída en estado normal por las fibras colágenas y elásticas, de crecer y ramificarse indefinidamente con absoluta independencia de las células conectivas, así como los curiosos hechos de crecimiento patológico y hasta de aislamiento ó segregación colonial observados en las fibras adventiciales de los vasos del cerebro y otros órganos por Achúcarro (1912), con ayuda de su método del tanino y plata amoniacal, plantean un problema para el cual propusimos nosotros en 1913 (1) una solución de tanteo ó conjetura de trabajo.

(1) *Cajal:* Discurso inaugural de la Asociación española para el progreso de las ciencias. Madrid, 1913.

Cabe imaginar — discurríamos — que durante la época embrionaria emigren del protoplasma del corpúsculo conectivo ciertos bióforos ó unidades ultramicroscópicas (que podrían designarse *inobionas),* las cuales, libres en los espacios intercelulares ó materias amorfas, gozarían de vida simplicísima y puramente vegetativa. Entre sus atributos esenciales contaríanse: la síntesis de principios inmediatos específicos (*colágena, elastina, osteína,* etc.) que agregarían por asimilación á su propia substancia; la multiplicación por división durante la ontogenia del organismo y, en fin, su modelamiento en edificios lineales invasores, anastomosados en virtud quizás del homotropismo recíproco de dichas unidades. Llegada la extrema senectud ó en circunstancias patológicas, las *inobionas* degenerarían, transformando su quimismo y acaso pereciendo definitivamente.

Excusado es decir que las *inobionas* no tienen nada que ver con las mitocondrias de Benda ni con los *bioblastos* de Altmann, unidades groseras, microscópicas, de las cuales nadie ha podido hasta hoy demostrar la capacidad de emigrar del protoplasma y de elaborar materias amorfas.

Aparición de las mitocondrias. — Preséntanse desde muy temprano en el embrión de pollo (desde las veinticuatro ó treintra y seis horas de la incubación), según han probado las investigaciones de Meves y Duesberg, afectando forma de bastoncitos finos, frecuentemente doblados y esparcidos irregularmente por el soma y expansiones (fig. 85, *b).*

Diferenciación del aparato de Golgi. — Debemos á las investigaciones de Fañanás (1913) una noticia interesante acerca de este punto. Según mostramos en la figura 199, B, tomada del trabajo de este autor, durante los tres días primeros de la incubación en el pollo, los elementos del citado aparato hállanse diseminados irregularmente por todo el protoplasmá, bajo la forma de granos y de bacilos sueltos, sumamente parecidos á las mitocondrias. Pero desde el quinto día en adelante (fig. 200, A), los bacilos y gránulos se concentran en un polo protoplasmático, cerca del núcleo, integrándose progresivamente en un armazón reticulado. La disposición en cordoncitos cortos y granos diseminados, reaparece durante la mitosis, conforme notaron ya en los corpúsculos glandulares, conectivos y epiteliales jóvenes ó adultos, Perroncito (1910) y Deineka (1912).

La gran semejanza que durante sus fases embrionarias y en el estado mitósico de los fibroblastos ofrece el aparato de Golgi (coloración por el método del formol ácido-arsenioso de Golgi) con el sistema mitocondrial, ha motivado una duda manifestada repetidamente por Meves, Duesberg (1913), Dubreuil (1913) y recientemente (1914) por Deineka. Para estos sabios, podría muy bien suceder que ambos aparatos, el mitocondrial y el de Golgi, fueran la misma cosa; los trabéculos coloreables por el método de Golgi y descritos por los autores italianos, representarían sólo la parte yuxtanuclear de la do-

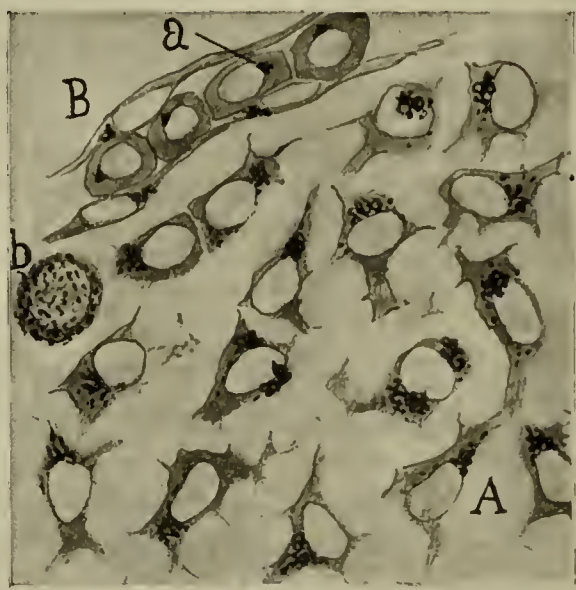

Fig. 200. — Aparato reticular de Golgi en las células conectivas del mesodermo. Embrión de pollo del quinto día de incubación. — A, fibroblastos con aparato concentrado en un ángulo protoplásmico; B, vaso sanguíneo, cuyos hematíes exhiben *(a)* pequeño aparato reticular.

tación de condromitos contenida en la célula. Deineka llega á declarar, confirmando sin saberlo, una manifestación hipotética de Fañanás, que la evolución del sistema mitocondrial pasa por las fases siguientes: 1.ª En las células embrionarias, el aparato de Golgi representa solamente un segmento, la *porción polar ó pericentrosomal* del sistema de mitocondrias difusas. 2.ª En las células adultas y en las jóvenes cuya diferenciación funcional ha terminado, siendo ya incapaces de mitosis, las mitocondrias se concentran en torno del centriolo y constituyen una red cuyos trabéculos son ya incapaces de resolverse en gránulos. De donde se infiere que el aparato reticular de Golgi viene á constituir la fase adulta de la evolución mitocondrial.

Según es de presumir, los investigadores de la escuela de Golgi,

singularmente Perroncito (1913), se oponen categóricamente á la susodicha identificación, alegando que el aparato reticular interno constituye un órgano específico de toda célula viva, y absolutamente extraño al sistema de gránulos y filamentos decrito por Meves, Duesberg, Dubreuil y Deineka, en los elementos jóvenes y adultos.

La cuestión es ardua y exige todavía nuevas investigaciones. En la duda, nos inclinamos, empero, en favor del criterio de Perroncito, por estas dos razones:

1.ª En la época en que Meves y Duesberg encuentran solamente mitocondrias diseminadas en el protoplasma de las células conectivas (embriones de pollo del sexto al décimo día), las investigaciones de Fañanás (método del formol-urano) demuestran de modo indudable la presencia de un aparato de Golgi, bien modelado (fig. 200, A), con exclusión casi perfecta de bacilos ó gránulos dispersos.

2.ª Por diversos métodos (el de Regaud, el de Achúcarro, el de Benda y Meves, etc.), las células glandulares y nerviosas adultas, aparecen provistas de un sistema mitocondrial típico; pero, además, cuando se las somete á los procederes argénticos específicos (proceder de Golgi al formol ácido-arsenioso, ó el nuestro, al formol urano) revelan un aparato reticular exquisitamente diferenciado y absolutamente inconfundible con las mitocondrias, de quienes divergen química y morfológicamente.

4.º *Tejido conjuntivo adulto.* — Las células dejan de proliferar, adquiriendo formas laminares y retrayendo muchas de sus expansiones. La formación creciente de los haces y el espesamiento de éstos, separa los cuerpos celulares y disminuye, en consecuencia, el número relativo de corpúsculos. Las lagunas conjuntivas quedan reducidas á espacios virtuales, lubrificados por el plasma linfático.

Es muy probable que los corpúsculos conectivos adultos sean incapaces de proliferar. A nuestro modo de ver, la regeneración del tejido conectivo corre á cargo de los corpúsculos cianófilos, ó células conectivas-gérmenes, las cuales, á la manera de lo que ocurre con los epitelios y con los hematíes nucleados de la médula ósea, han conservado indefinidamente su carácter embrionario. Como la piel y mucosas son los parajes más ocasionados á lesiones, en ellos, es decir, cerca de los epitelios tegumentarios es donde más abundantes se hallan los elementos cianófilos.

Del origen de las células cebadas, cianófilas, pigmentarias y clasmatocitos, se sabe poco de positivo. Verosímil parece que

representen diferenciaciones del corpúsculo emigrante primitivo de Saxer. Para Maximow, las células cebadas y clasmatocitos serían el resultado de la evolución de sus linfocitos.

Preparación del tejido conjuntivo. — a) *Fascículos conectivos y células.* — El mejor método de demostración consiste en examinar un trozo de la bola de edema determinada en el tejido conjuntivo subcutáneo de un animal (perro, conejo, conejillo indiano, etc.), mediante la inyección de un líquido colorado é indiferente. El agente que nosotros utilizamos con este objeto, es el líquido salino indiferente (sal al 0'75 por 100), en donde se han disuelto, hasta obtener un color intenso, algunos trozos de violado de metilo. Este licor, que no altera en lo más mínimo las células, presta al protoplasma color violeta claro, colora en violado intenso los núcleos y fibras elásticas, y tiñe apenas los fascículos conectivos. La observación debe efectuarse en el mismo vehículo inyectado, pues la glicerina ó el alcohol roban el color al preparado, dándole demasiada transparencia.

A fin de ejecutar preparaciones definitivas, podrán ensayarse las inyecciones de ácido ósmico ó nitrato de plata. Las del nitrato (al 1 por 300 ó 500) señalan con toda corrección los límites protoplásmicos y los fasciculares, pudiendo teñirse los núcleos subsiguientemente con el picrocarminato ó hematoxilina; pero tienen el inconveniente de retraer las expansiones celulares y de sembrar la preparación de precipitaciones argénticas negras.

Por esto preferimos nosotros la fijación con ácido ósmico. El procedimiento consiste en inyectar en el tejido subcutáneo de un perro, conejo ó conejillo indiano, una solución de aquel agente al 1 por 100. De la infiltración edematosa resultante, se toma una pequeña porción con las tijeras y se coloca sobre un porta-objetos. Acto continuo se lubrifica el preparado con picrocarminato ó hematoxilina y se cubre con una laminilla. A las veinticuatro horas de coloración (ésta se efectuará en cámara húmeda), se deslizará suavemente el cubre-objetos y se depositará en el tejido una gota de glicerina.

La demostración de las relaciones de las células con los haces conectivos y el estudio de la disposición general de éstos, exige el método de los cortes. Trozos de piel ó de mucosas se induran en alcohol, se incluyen en celoidina y se tiñen por el carmín, hematoxilina, ó las anilinas básicas. Para hacer resaltar los fascículos, son de recomendar el método de Gieson y nuestro procedimiento de triple coloración con la fuchina y el picro-índigo-carmín (véase *Técnica general).* También el proceder de Achúcarro de que tratamos más adelante tiñe muy bien los fascículos colágenos.

Heidenhain ha dado asimismo (1908) una fórmula excelente para el teñido de los haces colágenos:

1.° Coloración nuclear en hematoxilina Delafield (previa fijación de las piezas en sublimado, etc.).

2.° Lavado en agua y alcohol de 96°.

3.° Inmersión de los cortes en alcohol amoniacal (un centímetro de amoníaco por un litro de alcohol).

4.° Coloración en la solución alcohólica de *cromotropo* 2, R ó en la de *cromotropo* 2, B.

5.° Lavado en alcohol absoluto, xilol, etc.

El *cromotropo* 2, R y 2, B tiñen los haces conectivos en rojo anaranjado; el *cromotropo* 6, B y 7, B los impregnan en rojo rubí que tira algo á azulado.

Fibras elásticas. — La demostración de las fibras elásticas y de las fibras anulares de los haces, se efectuará con la mayor facilidad en los preparados teñidos con carmín, sometiéndolos por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas á la acción de glicerina que contenga 1 por 100 de ácido acético. Aparentemente, los anillos de Henle, que se presentan también muchas veces en espiral, se tiñen por el carmín bajo la acción de los ácidos. Pero un examen atento, practicado con el objetivo 1'13 Zeiss y aparato *Abbe* sin diafragma, permite reconocer que el color reside por debajo de los anillos y resulta de la condensación sufrida por el fascículo al nivel de aquéllos. Donde la estrangulación es nula ó poco aparente, las fibras se muestran siempre incoloras.

También se ha preconizado la orceína para teñir las fibras elásticas. Los cortes deberán permanecer durante quince minutos en la estufa y en un líquido compuesto de: orceína, 1; alcohol, 100; ácido clorhídrico, 1. Deshidratación en alcohol y montaje en damar. Las fibras elásticas adquieren un tono purpúreo moreno, resaltando bien del tejido conectivo que se colora flojamente.

P. Röthig (1900) ha propuesto un nuevo producto, la *kresofuchina,* para la coloración de las fibras elásticas. Los tejidos deben preferentemente fijarse en una solución débilmente alcohólica de sublimado (solución concentrada acuosa de sublimado, nueve partes; alcohol de 40°, una).

Los cortes (tras la inclusión en celoidina ó parafina) se tiñen en un líquido compuesto de

Solución madre de kresofuchina.....	40 cent. cúb.
Alcohol de 40°.....	24 —
Solución concentrada de ácido pícrico.....	32 gotas.

La solución madre á que la fórmula se refiere contiene: kresofuchina, 0'5; alcohol de 40°, 100; ácido clorhídrico, 3.

Después de dos horas de coloración se deshidratan rápidamente, se aclaran en xilol y se montan en damar. El examen micrográfico

muestra las fibras elásticas de color azul intenso; ciertas substancias, como la fundamental cartilaginosa, aparecen de rojo fuerte.

También el método del nitrato de plata reducido colorea las fibras elásticas de negro pardo. Para ello, se fijará primeramente por dos días en alcohol amoniacal (alcohol, 50 cent. cúb.; amoníaco, 10 gotas), se llevarán las piezas al nitrato de plata al 1'50 por 100 por cinco días (estufa á 30°) y se operará la reducción en ácido pirogálico con un poco de formol.

Pero el proceder más bello para la demostración de las fibras elásticas es el siguiente, hoy muy en boga por su sencillez, constancia y excelencia de la coloración:

Coloración de las fibras elásticas de Weigert (1898).

1.° Induración del tejido en alcohol ó formol. Celoidina, etc.

2.° Tratamiento de los cortes por veinte minutos en un color formado por precipitación de una solución de fuchina y resorcina por el percloruro de hierro. Esta solución es alcohólica y será añadida de ácido clorhídrico. Como su preparación es engorrosa, lo mejor es hacer uso del *líquido de Weigert,* preparado por Grübler, de Leipzig, y vendido con el nombre de *Weigert's Farblösung für elastiche Fasern.*

Este líquido, que es de color violado obscuro, se extiende sobre los cortes previamente adheridos al porta-objetos y enjugados con papel chupón. El colorante debe obrar veinte minutos. Enjúganse otra vez sin lavar y se tratan por el alcohol absoluto, xilol y damar. Según Tello, no hay inconveniente en teñir y decolorar en un pocillo de porcelana, como se hace con los procederes ordinarios, á las anilinas.

Las fibras elásticas aparecen teñidas de violado azul, casi negro. Conviene aplicar una coloración de fondo para hacer resaltar los núcleos (método tricrómico, etc.). El proceder de Weigert da buenos resultados, tanto en los cortes de la celoidina como en los obtenidos con el microtomo de congelación (1).

(1) Quien desee preparar por si mismo el *líquido de Weigert,* procederá del siguiente modo:

Hágase desde luego esta solución:

Fuchina.....	1 gramo.
Agua destilada.....	100 cent. cúb.

Caliéntese el líquido y en plena ebullición se añadirá:

Resorcina	2 gramos.
Agua destilada.....	100 cent. cúb.

Vuelta á hervir en cápsula de porcelana y nueva adición de

Percloruro de hierro al 30 por 100.....	25 cent. cúb.

Fórmase abundante precipitado. Una vez enfriado, fíltrese el líquido,

Coloración de las células cebadas de Ehrlich. — Se teñirán en los cortes, para lo que se preferirá la tionina. Secciones finas de tejido englobada en celoidina se sumergen, por algunos minutos, en solución saturada acuosa de tionina; luego se decoloran en el alcohol absoluto hasta que resulten de violado claro, y, por último, se llevan al xilol y al bálsamo. Si la decoloración no ha sido excesiva, los núcleos quedarán de azul obscuro, los haces conectivos de azul pálido y las granulaciones de las células cebadas de rojo heliotropo, fenómeno de metacromasia que también se observa en la mucina, en la materia fundamental cartilaginosa y en la túnica media de las arterias.

Existen otros métodos de coloración de las células cebadas. Uno de ellos, usado por Arnold, Renaut, etc., consiste en tratar el tejido conectivo de un animal recién sacrificado, con una solución de rojo neutro en agua salada al 0'75 por 100. Este proceder, que se llama *coloración supravital,* para diferenciarla de la *coloración vital,* ó sea la obtenida por inyección en vivo de la materia colorante, tiñe muy bien las granulaciones de las células cebadas, así como las esférulas de los clasmatocitos. El examen debe practicarse en fresco, en el mismo líquido colorante, que será muy diluído (0'1 á 0'5 por 100).

También las combinaciones de varios colores de anilina se aplican con éxito. Una de las fórmulas más usadas hoy es el azul policrómico de Unna, reactivo que tiene la ventaja de teñir bien á un tiempo las células cebadas, las células cianófilas y los corpúsculos fijos.

He aquí el *modus operandi* del azul policrómico:

1.° Fijación de las piezas en alcohol. Los cortes se sumergen, desde un cuarto de hora á un día, en el azul policrómico de Unna (preparado por Grübler).

2.° Lavado rápido en agua.

3.° Decoloración, por cinco á diez minutos, en solución al 25 por 100 en agua, del licor glicero-etéreo (Glicerinäthermischung) de Unna. Este líquido se expende por la casa Grübler, de Leipzig.

4.° Lavado abundante en agua.

5.° Deshidratación y decoloración, durante algunos segundos, en alcohol absoluto. Esencia de bergamota y bálsamo.

En vez de diferenciar en la solución glicerino-etérea, puede usarse con igual fin la solución alcohólica al 0'25 por 100 de orceína neutra (también preparada por Grübler).

aprovechándose sólo la materia detenida en el papel. El depósito, junto con el filtro, viértese en cápsula de porcelana; añádanse después 20 cent. cúb. de alcohol absoluto y vuélvase á elevar la temperatura á 100°. Se deja enfriar la mezcla, compensando el alcohol evaporado hasta completar los 200 centímetros cúbicos, y, en fin, se acaba la operación añadiendo 4 cent. cúb. de ácido clorhídrico. El licor resultante consérvase bien dos ó tres meses.

Células cianófilas.—Coloréanse bien por cualquier anilina básica, singularmente por la tionina, azul de toluidina y azul de metileno. Nuestro método tricrómico (á base de fuchina) da también buenos resultados, á condición de no extremar la decoloración en alcohol.

Un proceder muy usado actualmente para el estudio de tales células es el llamado de Unna-Pappenheim.

He aquí sus operaciones:

1.ª Los cortes hechos en piezas parafinadas ó celoidinadas, previamente fijadas en alcohol, se sumergen, por cinco á diez minutos, en el *licor de Unna-Pappenheim* (mezcla de ácido fénico, pyronina y azul de metileno) (1). Lo mejor es poner el líquido con los cortes en tubo de ensayo y calentar á 30° ó 40° unos minutos (estufa ó baño maría).

2.ª Enfriamiento rápido del tubo en agua fría.

3.ª Lavado de los cortes en agua, donde se agitarán á favor de una aguja de platino ó delgado palillo.

4.ª Decoloración y deshidratación rápida, durante algunos segundos, en alcohol absoluto. Aclaramiento en bergamota, goma damar ó bálsamo.

Si la coloración ha salido bien, el protoplasma de las células cianófilas se mostrará rojo (por la pironina) y los núcleos verdes. Las células cebadas muestran sus granulaciones en rojo fuerte.

b) *Tejido tendinoso.* — La simple disociación de un trozo de tendón de la cola del ratón ó de los dedos de la rana en un excipiente inofensivo (licor sódico-metílico), nos dará ya idea clara de la forma, situación y conexiones de las células y fascículos. El desprendimiento de los tendoncitos de la cola del ratón es una maniobra que conviene detallar. Despellejada la cola, aparecerán á la vista las vértebras caudales, sus intersticios y las fajas tendinosas nacaradas que las envuelven. Córtense, al nivel de una articulación vertebral, todas las partes blandas, excepto uno de los tendones. Tomando los dos extremos de la cola, se estirará el puente fibroso susodicho, y se verá que se prolonga enormemente, descomponiéndose en finísimos haces. Estos son los haces primarios, que se recogerán en porta-objetos, se fijarán en alcohol, se teñirán con hematoxilina y conservarán en glicerina.

Para completar nuestros informes sobre la trama tendinosa, es preciso ejecutar cortes transversales. La induración previa de un tendón en el alcohol, y subsiguientemente en celoidina, consentirán la ejecución de cortes suficientemente finos para el examen, los que se tratarán por los procedimientos ordinarios de coloración y conservación.

(1) Lo proporciona, como todas las soluciones colorantes complejas, la casa Grübler, de Leipzig.

El endotelio sólo se percibe bien impregnando fascículos frescos de tendón disociado por el nitrato de plata al 1 por 300 ó 500. Los tendones de la cola del ratón son muy apropiados al objeto.

En el estudio de las aponeurosis elegiremos la femoral de la rana, que es sumamente delgada y transparente. Un examen provechoso podrá hacerse ya en fresco tiñendo la membrana, estirada por semidisecación, con una gota de una solución de verde ó violeta de metilo acetificados. Los núcleos se tiñen admirablemente, revelándose con sus crestas de impresión y resaltando sobre un fondo casi incoloro. La fijación de la aponeurosis fresca y extendida con alcohol absoluto, su coloración con carmín ó hematoxilina y su conservación en glicerina acetificada, nos proporcionarán preparados definitivos.

c) *Córnea.* — Para comenzar el estudio de la córnea convendrá el examen de cortes antero-posteriores, sumamente delgados, teñidos con carmín, hematoxilina ó tionina, obtenidos previo endurecimiento en alcohol y celoidina. Los fascículos conectivos no se perciben bien sino por disociación de la córnea endurecida en ácido crómico, ósmico ó bicromato de potasa. En cuanto á las células, conviene examinarlas de plano, previa coloración ó impregnación. Los resultados más correctos se obtienen con el nitrato de plata y el cloruro de oro. La nitratación se efectúa pasando un lápiz de nitrato de plata sobre la córnea viva en situación normal. Lavada y separada ésta, se expondrá á la luz en un poco de agua acética, á fin de que el epitelio se reblandezca y pueda después fácilmente desprenderse. Si la nitratación sale bien, deben mostrarse las células blancas sobre fondo castaño.

Otro método, quizá más seguro, consiste en refrescar con un corte tangencial una córnea de mamífero, y tratarla, acto continuo, con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La acción subsiguiente de la luz, en agua ó glicerina, revelará las células con todos sus detalles, incluso el núcleo, que, aunque incoloro, será perceptible si el examen se verifica en el agua.

El cloruro de oro produce imágenes tanto ó más demostrativas. El método que mejores resultados nos ha dado es el de Cohnhein: inmersión de la córnea fresca en solución de cloruro de oro al 0'5 por 100 hasta que adquiera color amarillo de paja; lavado subsiguiente y reducción al sol en agua con algunas gotas de ácido acético, hasta que la pieza tome color violeta intenso; induración al alcohol y ejecución de cortes ya paralelos ya antero-posteriores. En éstos cabrá observar, aparte de las células que se mostrarán teñidas de violeta intenso, las terminaciones nerviosas epiteliales.

El método del nitrato de plata reducido da también coloración aceptable de las células corneales, las cuales resaltan en pardo granuloso sobre fondo claro. Todavía mejor se tiñen las células de la escleró-

tica y las de los tendones. La fórmula preferible es la consignada en el párrafo siguiente:

Tejido reticular y citógeno.—Las finas hebras y hacecillos de *reticulina* peculiares de los ganglios linfáticos, bazo y demás tramas linfoides, adquieren tono pardo café por el método siguiente:

1.° Las piezas frescas se tratan, de seis á veinticuatro horas, por una solución de formol y acetona á partes iguales.

2.° Lavado en agua corriente durante dos á seis horas.

3.° Inmersión en alcohol de 96°, con gotas de amoníaco (cuatro gotas para 50 cent. cúb. de alcohol).

4.° Lavado rápido de las piezas en agua destilada.

5.° Los trozos, que no deben tener más que 2 milímetros de espesor, se conservan, durante cuatro ó cinco días, por estufa á 35°, en una solución al 1'5 por 100 de nitrato de plata.

6.° Reducción por veinticuatro horas en ácido pirogállico (ácido pirogállico, 1; agua, 100; formol, 5).

7.° Alcohol, celoidina, secciones medianamente finas y bálsamo.

La modificación de nuestro método, propuesta por Levaditi para la coloración del *espirocheto* de la sífilis, proporciona también buenos resultados, según afirman Alagna (1908) y C. Ciaccio (1908), que han impregnado respectivamente la trama reticular de las tonsilas y la del bazo (véase *Técnica* en nuestro libro de Anatomía patológica, 5.ª edición).

Un buen método es también el siguiente, de Mall:

1.° Los cortes se someten á la digestión por la pancreatina.

2.° Se agitan y lavan en agua y después se los extiende sobre porta-objetos, donde son enjugados con papel secante, y se abandonan á la desecación.

3.° Se humedecen con este líquido: alcohol absoluto, 150; ácido pícrico, 10 gramos; agua, 300.

4.° Nueva desecación, después de la cual se tratan los cortes por este licor: fuchina ácida, 10 gramos; alcohol absoluto, 33 centímetros cúbicos; agua, 66. Se vierte el exceso de fuchina.

5.° Tratamiento de los cortes, durante algunos minutos, por una solución de ácido pícrico.

6.° Alcohol absoluto, xilol, bálsamo, etc.

Aunque no da coloración tan intensa como el de Mall, cabe también usar el procedimiento de V. Gieson (véase Técnica general) á base de fuchina ácida.

Un perfeccionamiento del proceder de Mall es el de Hansen, que colorea igualmente bien de rojo fuerte los finos haces de reticulina, y que tiene sobre el precedente la ventaja de no exigir la desecación de los cortes.

1.° Las secciones se inmergen, por veinte minutos ó más, en un lí-

quido compuesto de: solución acuosa saturada de ácido pícrico, 30; 2 cent. cúb. de una solución al 2 por 100 (en agua) de fuchina ácida y siete gotas de ácido acético al 1 por 100.

2.º Los cortes son lavados en agua que contenga algunas gotas de la solución precedente (20 gotas por 30 cent. cúb. de agua).

3.º Rápida deshidratación en alcohol de 96º. Alcohol absoluto y bálsamo del Canadá espeso.

Schaffer (1899) usa una fórmula parecida, mas aconseja teñir previamente los cortes por la hematoxilina alumínica, con lo que los núcleos se hacen perceptibles. La tinción conectiva la efectúa en este líquido: solución saturada de ácido pícrico, 100; rubina ácida, 0'15; ácido acético, dos gotas. Acción, pocos minutos. Alcohol, etc.

Método de Achúcarro para el teñido argéntico del tejido conectivo reticular (1913):

1.º Fijado de los órganos en formol al 12 por 100 durante dos ó más días.

2.º Cortes de 10 μ en el microtomo de congelación, después del lavado del bloque en agua corriente.

3.º Lavados los cortes en agua destilada, se dividen en dos lotes, que se introducen en sendas cápsulas con una solución de tanino saturada en frío. Una de las cápsulas se calentará durante media hora á 55º, y la otra se abandonará á la temperatura de la habitación durante veinticuatro horas.

4.º Los cortes (enfriados los calentados) se tratarán uno á uno del modo siguiente: lavado rápido en agua destilada é introducción en un pocillo de cristal que contenga 20 cent. cúb. de agua destilada, adicionada de 10 gotas de la solución de plata amoniacal de Bielschowsky. Los cortes adquieren color amarillento, algo moreno, y segundos después se lavan rápidamente en agua destilada y se trasladan al

5.º Formol al 20 por 100, donde se ponen obscuros. Permanecen aquí quince minutos y, después de bien lavados, se montan en bálsamo, previa deshidratación y aclaramiento en xilol.

La trama reticular aparecerá teñida en negro ó pardo intenso y más vigorosamente que los haces conectivos ordinarios. Los núcleos preséntanse impregnados en azul negro.

CAPÍTULO XIV

TEJIDO ADIPOSO

Definición. — El *tejido adiposo* ó grasiento es una trama de origen mesodérmico constituída principalmente por células esféricas, provistas de una gota de grasa y separadas á favor de hacecillos conjuntivos.

Existen dos modalidades de tejido adiposo: el *adiposo común* y el *medular de los huesos*.

TEJIDO ADIPOSO COMÚN

Distribución y caracteres físicos. — El tejido adiposo aparece abundantemente esparcido por el organismo; forma un cojinete espeso bajo la piel, rodea las vísceras y rellena los huecos que resultan entre los músculos, nervios, etc. Su color es amarillento, su peso específico de 0'927, por lo que flota en el agua, y su consistencia semisólida.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio el producto de la disolución de un lobulillo adiposo, llaman nuestra atención unos corpúsculos poliédricos de un diámetro considerable (de 20 á 40 μ ó más), que tienen el aspecto de vejigas llenas de grasa. Un examen más atento, sobre todo si recae en preparaciones teñidas por el ácido ósmico y el carmín, revela en cada célula cuatro cosas : la membrana, el protoplasma, el núcleo y la grasa (fig. 201).

La *membrana* es finísima, poco perceptible en las células íntegras; mas si la grasa se extrae, ora mecánicamente (por rasgadura), ora á favor de la bencina ó el éter, la cubierta se pliega, mostrándonos en muchos parajes un doble contorno muy aparente (fig. 201, *a*).

El *protoplasma* es finamente granuloso y sólo se distingue bien del lado del núcleo, en donde se presenta amontonado *(c)*. Algunos autores describen en él redes complicadas bien aparentes, sobre todo en ciertos vertebrados inferiores. Las mitocondrias han sido observadas por Dubreuil (1910). Un aparato reticular de Golgi rudimentario ha sido señalado por Deineka y confirmado por nosotros en el gato de pocos días. Adviértase en la figura 202, *a, b,* su situación en un lado del protoplasma y cerca

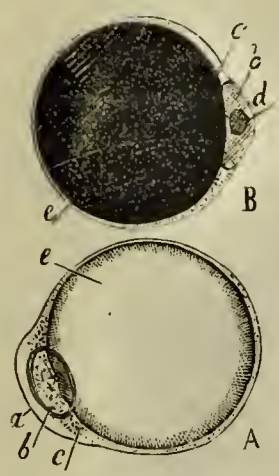

Fig. 201. — Dos células grasientas del perro joven. — A, célula tratada por el verde de metilo acetificado; *a*, cubierta; *b*, núcleo; *c*, protoplasma; *e*, gota de grasa; B, célula fijada por el ácido ósmico; *b*, núcleo; *d*, nucleolo.

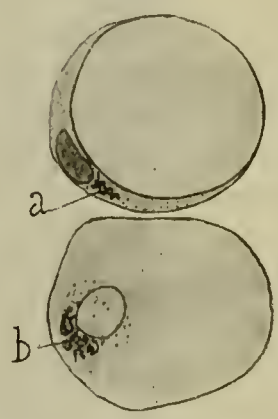

Fig. 202. — Células adiposas del perro de pocos días. Método del formol-urano. — *a*, *b*, aparato de Golgi.

del núcleo, y su aspecto de grumos ó granitos apenas trabados.

El *núcleo* afecta una figura discoide, está rodeado de protoplasma y constituye en el contorno celular un abultamiento ligero (fig. 201, *b)*.

La *gota de grasa* es voluminosa, pues llena, como se ve en la figura 201, *e,* casi todo el contenido celular; su contorno es limpio y está orlado de un limbo obscuro, particularidad óptica que presentan siempre aquellas substancias cuyo índice de refracción discrepa mucho del que poseen los medios orgánicos. En torno de la gota grasienta, el protoplasma constituye tan delicada película, que se creería faltar por completo. Por lo demás,

la masa oleosa aparece en fresco perfectamente homogénea y de matiz ligeramente amarillento; no así en las preparaciones que han sufrido la acción del alcohol, en las cuales es frecuente hallar, en el centro de la gota grasienta, irradiaciones de agujas impropiamente llamadas de *margarina*.

Las células adiposas pueden vivir solitarias, como diseminadas en el seno del tejido conjuntivo; pero la regla es encontrarlas congregadas, constituyendo grupos más ó menos nume-

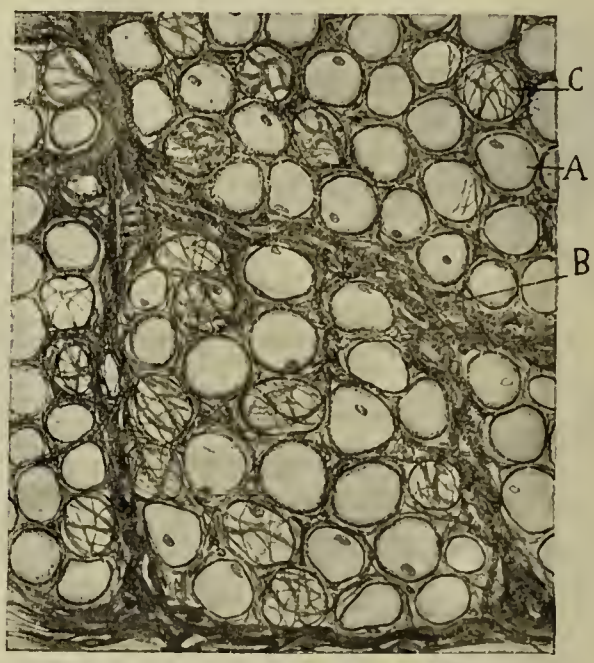

Fig. 203. — Tejido adiposo subcutáneo del perro de dos meses. — A, célula adiposa; B, tabiques conjuntivos; C, finos haces que rodean las células.

rosos que se llaman *lobulillos adiposos*. Tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de vasos de algún calibre, sirven para separar dichos lóbulos. Dentro de estos últimos, las células no están en íntimo contacto; entre ellas reside una trama formada por delicados fascículos conjuntivos y una red capilar tupida, de mallas poligonales, y en un todo semejante á la que rodea los acini glandulares. En la figura 203 mostramos una sección del tejido adiposo, donde aparece particularmente teñida la trama especial conectiva. Repárense los tabiques conjuntivos inter-

lobulares y las finas hebras y hacecillos que circundan las células (fig. 203, C), envolviéndolas en una especie de canastillo, solamente visible en aquellos elementos que muestran libre (por azares del corte) una de sus caras.

Los colores básicos de anilina revelan en los tabiques conectivos del tejido adiposo numerosas células cebadas y algunos corpúsculos cianófilos. Naturalmente, no faltan tampoco fibroblastos ó células fijas y algún elemento emigrante.

TEJIDO MEDULAR DE LOS HUESOS

Esta variedad adiposa se caracteriza por encerrar, además de las células grasientas y del retículo conjuntivo, una infinidad de corpúsculos pequeños, de aspecto embrionario, llamados *meduloceles,* así como ciertos otros de talla gigante, designados *osteoclastos* y *mieloplaxias*.

Distribución y caracteres físicos. — Existen dos variedades macroscópicas de la médula, que corresponden á dos modalidades microscópicas bien acusadas: la *médula amarillenta* ó tuétano que reside en el conducto de los huesos largos, y se halla compuesta exclusivamente de grasa y tejido conjuntivo, y la *médula roja* ó *fetal*, habitante en las epífisis de los huesos largos y en la trama areolar de los cortos y anchos. Esta última especie medular es la que, por separarse ostensiblemente de la estructura del tejido adiposo común, merece una descripción particular.

Caracteres microscópicos.—Si se disocia en estado fresco y con ayuda de un líquido indiferente un trozo de médula roja ó fetal, los elementos puestos en libertad son numerosos. Entre ellos pueden distinguirse las siguientes especies: *osteoclastos*, *mieloplaxias*, *células rojas* nucleadas, *eritroblastos* ó células semihialinas, *leucoblastos* y *células adiposas*.

Osteoclastos (poliocariocitos de Bambeke). — Así se llaman unas células voluminosas (de 20 á 40 μ), de contorno irregular, yacentes en la periferia de la médula, encajadas en ciertas fositas ofrecidas por la superficie interna de los huesos (fig. 204, E). Su protoplasma es granuloso, emitiendo á veces gruesas expansiones, y en su interior se alberga un número variable de nú-

cleos (4, 6 ó más) pequeños, ovoideos, diseminados irregularmente. La multiplicidad nuclear y la posición periférica de estas células, distínguenlas bien de los demás elementos medulares. Sus mitocondrias, granulares, finas y numerosas, han sido descritas por Dubreuil (1910).

Mieloplaxias (megalo-cariocitos de Bambeke). — Caracterízanse por su talla gigante (de 20 á 60 μ), forma redondeada ó poligonal, y sobre todo, por encerrar un núcleo voluminoso, muy semejante en forma, aunque muy superior en tamaño, al de los

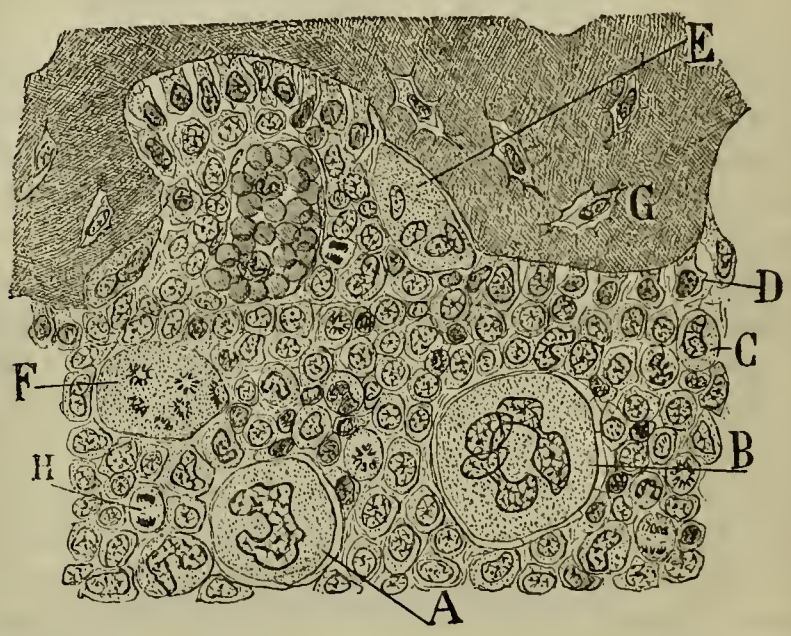

Fig. 204. — Corte transversal de la tibia y médula ósea de un conejillo de Indias joven. Decalcificación en ácido pícrico y teñido por la hematoxilina. — A, mieloplaxia mediana de núcleo arriñonado; B, mieloplaxia gigante de núcleo dispuesto en rosario; C, mielocitos ó meduloceles; D, osteoblastos situados junto al hueso joven; E, osteoclasto situado en contacto con el hueso; F, mieloplaxia con mitosis múltiple; G, célula ósea.

leucocitos (fig. 204, A, B). Las formas que suele adoptar este núcleo son: la de riñón, la de doble bola con istmo delgado de unión, y sobre todo, la de rosario de lóbulos, dispuesto en herradura ó plegado de manera variable y complicada. El carmín de Grenacher y la hematoxilina revelan en dicho núcleo un armazón cromático flojo, pero de trabéculas y nudosidades espesas. A veces, los pedículos de los lobulillos nucleares se rompen y el

corpúsculo adquiere dos ó más núcleos. El protoplasma es abundante, filamentoso y está rodeado por una membrana que se desprende en presencia del agua acidulada.

Como Heidenhain ha mostrado, el aspecto del protoplasma varía á distintas profundidades. El ectoplasma ó corteza exterior es obscuro, áspero y relleno de granulaciones, mientras que el protoplasma próximo al núcleo, y sobre todo el que rellena la gran escotadura de éste *(pirenocol)*, se presenta claro y finamente granuloso (coloración con la hematoxilina ferruginosa). Por este mismo método de coloración, la citada escotadura nuclear exhibe, irregularmente aumentados, numerosos centriolos (fig. 205, *a*). Las mitocondrias son abundantes (Dubreuil).

Las mieloplaxias no tienen sitio de elección, yaciendo esparcidas sin orden por todo el espesor de la médula.

Células rojas nucleadas (fig. 204, H). — Llamadas también corpúsculos de Neumann, representan hematíes en evolución, situados probablemente en el interior de los vasos. Su historia ha sido trazada ya al hablar de la hematogenesis.

Añadiremos aquí solamente que tanto los eritroblastos como los corpúsculos rojos nucleados, poseen un aparato de Golgi bien desarrollado, concentrado cerca del núcleo, según se echa de ver en la médula roja del perro ó gato jóvenes tratada por el proceder del urano-formol. Llegada la mitosis, el aparato se descompone en gránulos y bacilos dispersos. Los leucocitos con granulaciones, tan numerosos en la médula ósea, poseen solamente un sistema de granos diseminados, coloreables en negro por la plata (¿mitocondrias? ¿aparato reticular fragmentado y difuso?). Lo mismo sucede, conforme enseñan las investigaciones de Fañanás (1914), con las mieloplaxias, donde los gránulos argentófilos rellenan casi todo el protoplasma (á excepción del exoplasma), sin concretarse en aparato reticular.

Leucoblastos (*meduloceles* de los histólogos antiguos). — Son las células más numerosas de la pulpa medular, y su gran semejanza con los leucocitos ha inducido á los autores á estimarlas, ora como efectivos glóbulos blancos, ora como gérmenes ó fases embrionarias de éstos (fig. 204, C).

Las variedades más comunes de estos elementos, son: 1.º, cé-

lulas enanas, de 5 á 6 μ, de núcleo esférico, rodeado de fina capa protoplasmática; 2.°, células más voluminosas (de 9 á 12 μ), semejantes á leucocitos por la forma de su núcleo (con gibas, arriñonado ó múltiple) y el aspecto granuloso del protoplasma; 3.°, células con granulaciones eosinófilas; 4.°, células con granos basiófilos. De todos estos elementos, sólo el tipo primero encierra un aparato de Golgi concentrado.

No se conoce bien la filiación de estas células ni el grado de parentesco que cada una de ellas pueda tener con los leucocitos sanguíneos. Créese, no obstante, que estas dos últimas variedades de elementos representan glóbulos blancos adultos ó casi adultos, dotados de granulaciones y prontos á entrar en circulación. (Véase más atrás hematogenesis).

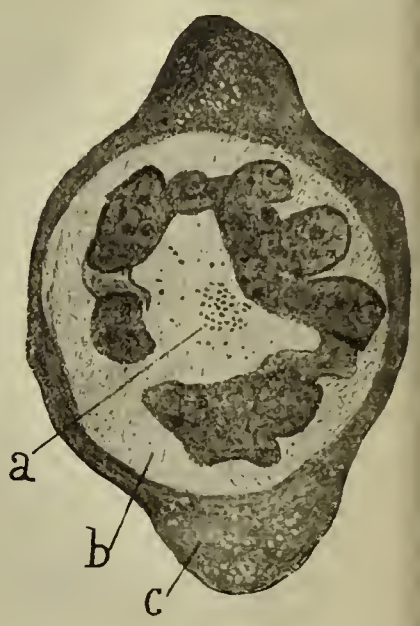

Fig. 205. — Mieloplaxia *(megalocariocito)* de la médula ósea del conejo. *a*, grupo de centrosomas situados en la concavidad del núcleo; *b*, exoplasma profundo; *c*, exoplasma superficial (según Heidenhain).

Células grasientas.—Son raras en la médula roja, muy abundantes en la amarilla, y sus propiedades coinciden con las de los corpúsculos adiposos antes descritos.

Trama conectiva. — Entre las células de la médula roja existe un retículo de finísimos hilos, cuya naturaleza no se conoce bien, aunque se supone análoga á la de los hacecillos colágenos. En la médula amarilla, Enderlen ha visto este retículo disponerse en forma de nidos que rodean las vesículas adiposas. Otros autores, Mall, por ejemplo, habían notado éstas ó parecidas reticulaciones. Células conectivas fusiformes ó estrelladas de larguísimos brazos, corren por la substancia amorfa. Tales fibroblastos son muy aparentes en la médula amarilla de los animales jóvenes. Finalmente, la médula ósea roja está

recorrida por una red capilar muy rica, cuyas trabéculas son anchas y de aspecto cavernoso.

Caracteres químicos del tejido grasiento. — Las grasas contenidas en las células adiposas, son: la *triestearina* y la *tripalmitina*, substancias sólidas á la temperatura ordinaria, disueltas en la *trioleína*, que es líquida. Disuelta en esta última grasa, se halla también una pequeña cantidad de *lecitina* y *colesterina*.

Como es sabido, las grasas neutras ó trigliceridos *(triestearina, trioleína*, etc.) son combinaciones de los ácidos grasos con la glicerina. Conócense muchos ácidos grasos: el *oléico*, el *esteárico*, el *palmítico*, el *butírico*, el *capróico*, el *acético*, etc., son los principales.

En las grasas sólidas, como la del carnero, dominan el ácido esteárico y el palmítico, al paso que en las semilíquidas y líquidas (perro, hombre) prepondera el oléico.

Las grasas neutras son insolubles en agua, bastante solubles en alcohol caliente, perfectamente solubles en la bencina, éter, xilol, etc. El ácido ósmico *(tetróxido de osmio)* las colorea en negro. Sin embargo, en todas se impregnan con igual intensidad; la que más enérgicamente reduce el ácido ósmico es la *trioleína*, así como el ácido oléico. En fin, las grasas atraen ciertos colorantes en solución alcohólica, como el *Sudan III*.

Propiedades fisiológicas. — Las células adiposas representan glándulas monocelulares, cuyo oficio consiste en producir y retener las grasas neutras, á fin de que, durante las épocas de deficiencia alimenticia, ó de gastos orgánicos excesivos, pueda disponer el organismo de un alimento de reserva. Si se examinan las células adiposas atrofiadas por la fiebre ó por la emaciación, se advierte, como ha demostrado Bizzozero, que la gota de grasa, muy disminuída y situada en el centro, está rodeada por un limbo de una materia mucosa semilíquida.

Histogenesis (fig. 206). — *Adipoblastos.* — Los lobulillos adiposos carecen de grasa en los primeros tiempos de su formación, y resultan de la agrupación de dos factores: una red capilar sanguínea, apelotonada y de estrechas mallas, y un conglomerado de células gruesas, redondeadas ó ligeramente poliédricas por presión recíproca, ricas en protoplasma, exentas de expan-

siones y situadas ya á lo largo de los capilares, ya en el espesor de sus mallas (fig. 206, B).

Semejantes elementos no deben identificarse con los corpúsculos fijos ni emigrantes del tejido conectivo, sino que hay que estimarlos como células específicas, diferenciadas *ab initio* en el seno del mesodermo, y residentes solamente en aquellos parajes donde, andando el tiempo, se formarán los lobulillos adiposos. Para evitar perífrasis, llamarémoslas *adipoblastos*.

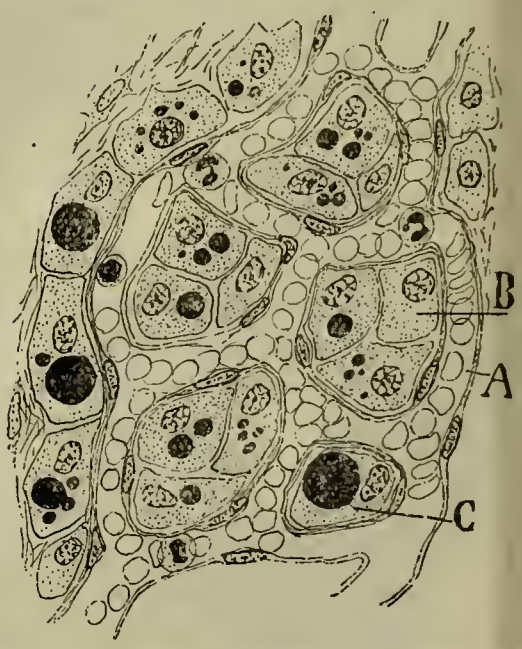

Fig. 206. — Tejido adiposo en vías de evolución de la piel del perro recién nacido. Coloración por el ácido ósmico y carmín. — A, capilar; B, adipoblasto sin grasa; C, adipoblasto con una gota de grasa.

El protoplasma de estas células se caracteriza, según demostró ya Altmann, y han confirmado numerosos autores (Arnold, Heidenhain, etc.), por la presencia de finas granulaciones protéicas, á cuyo cargo corre la síntesis de la grasa en cuanto, después del nacimiento, se instaura la alimentación láctea. Tales gránulos corresponden á las granulaciones vivas, llamadas primitivas, de los corpúsculos glandulares.

Célula adiposa. — Después del nacimiento, los adipoblastos son asiento de un depósito grasiento: primeramente aparecen una ó varias gotas de pequeña dimensión, diseminadas por el cuerpo celular; luego se reunen en una gota gruesa, la cual, creciendo progresivamente, dilata la célula, estira el protoplasma y obliga al núcleo á adoptar una posición excéntrica debajo de la membrana (fig. 206, C).

Esta grasa proviene de la alimentación láctea, y es fijada por las granulaciones primitivas, que desaparecen en cuanto las

gotas adiposas alcanzan cierto volumen. Verosímilmente, las granulaciones primitivas actúan sobre jabones circulantes por el plasma ambiente, operando la síntesis de los ácidos grasos y glicerina. Durante este proceso, y sobre todo en la fase anterior de adipoblasto, los lobulillos adiposos rudimentarios se acrecientan, tanto por la división mitósica de sus células, como por la multiplicación de las redes capilares asociadas.

La transformación de las granulaciones primitivas en gotas de grasa ha sido estudiada por Arnold en la glándula mamaria y otros órganos (1907); por Mlle. Loyer (1910), en el óvulo de los tunicados; por Prenant (1910), en las células hepáticas, y por Dubreuil (1911), en el panículo adiposo de los mamíferos. Debemos á este último autor detalles acerca del mecanismo de transformación de las mitocondrias (que se identifican hoy con las granulaciones de Altmann) en globos lipoides. Primeramente se espesan aquéllas, pudiendo alcanzar el triplo de su diámetro; luego, en el centro ó en el cabo de las mismas, aparecen abultamientos, algo así como retoños, dentro de los cuales se diferencia un centro claro, cuya naturaleza lipoide márcase de cada vez más, mientras que la corteza mantiene su naturaleza química protéica; finalmente, la corteza mitocondrial desaparece por licuación, quedando libre la gotita adiposa.

El desenvolvimiento de la médula ósea es mucho menos conocido. Supónese que todos sus elementos, exceptuando quizá las células rojas y eritroblastos, son diferenciaciones ocurridas, durante la época de la osificación cartilaginosa, en las células embrionarias de estirpe periostal que pueblan los grandes espacios medulares del hueso joven.

Ulteriormente, las mieloplaxias podrían multiplicarse por carioquinesis pluripolar (Dœnys). Según van de Strich y Bambeke, tomarían origen, entre otros modos, por transformación de los leucoblastos.

Preparación del tejido grasiento.—*Adiposo común.* — Un trozo extendido de epiplón mayor del gato, perro ó conejo, recién nacidos ó de pocas semanas, se tratará, durante media hora, por una solución de ácido ósmico al 1 por 100; luego se lavará, para quitar el ácido excedente, y se someterá, por veinticuatro horas lo menos, á la acción del picrocarminato. Las preparaciones montadas en glicerina mostrarán las gotas de grasa negras, moreno-amarillento el protoplasma, y rojos los núcleos de las células adiposas. Antes de tratar la preparación

por la glicerina, convendrá lubrificarla por algunos minutos con alcohol; de este modo las células no sufrirán retracciones ni se alterará la grasa ennegrecida.

Se obtendrán igualmente buenas preparaciones por el procedimiento de las inyecciones intersticiales de ácido ósmico en el tejido subcutáneo del perro de pocos días. Podrán seguirse en estos preparados, convenientemente teñidos, todas las fases evolutivas de la célula grasienta.

Un método que da también buen resultado para teñir la grasa de los tumores es el de Rossenthal, recomendado por Fischer (1902):

1.° Se fija el tejido en formol al 10 por 100.

2.° Lávanse las piezas quince minutos en agua.

3.° Córtase con microtomo de congelación.

4.° Las secciones se llevan á la solución alcohólica de *Sudan III*, es decir, sudan disuelto en alcohol al 70 por 100, donde permanecen de diez á treinta minutos.

5.° Lavado de los cortes en agua por dos minutos.

6.° Coloración de fondo y nuclear con la hematoxilina aluminosa.

7.° Lavado en agua.

8.° Montaje en glicerina.

Las gotas de grasa se presentan intensamente coloreadas de matiz naranja, destacando perfectamente de los demás factores de la preparación. Este proceder, muy en boga actualmente, sustituye ventajosamente al ácido ósmico, que tiene la desventaja de menoscabar las apetencias tintóreas de los núcleos.

También el rojo escarlata proporciona buenas coloraciones de la grasa.

La preparación de la médula ósea queda descrita al tratar de la hematogenesis. Añadiremos solamente que si se desea practicar cortes en la médula de un mamífero, es preciso escoger animales de pequeña talla, el ratón ó conejo de Indias, y someter los huesos frescos á la acción decalcificante del líquido de Flemming ó del ácido pícrico saturado. La coloración se hará con safranina, hematoxilina ó con los métodos de triple teñido.

CAPÍTULO XV

TEJIDO CARTILAGINOSO

Definición. — *El tejido cartilaginoso* consiste en una trama sólida, translúcida, habitada por células envueltas en espesa membrana y separadas unas de otras por una substancia intersticial abundante que da las reacciones de la condrina.

División. — Distínguese este tejido en tres modalidades: *variedad hialina, variedad reticular ó elástica* y *variedad fibroconjuntiva.*

VARIEDAD CARTILAGINOSA HIALINA

Distribución y caracteres físicos. — El cartílago hialino, así llamado por el aspecto homogéneo de su materia fundamental, constituye la costra ternillosa de las articulaciones diartrodiales, los cartílagos costales, los de la nariz, laringe, tráquea y bronquios. Seccionado en cortes finos es transparente; mirado en pedazos gruesos se muestra translúcido, opalino, con reflejos azulados.

Caracteres micrográficos. — Dos cosas componen el cartílago hialino: las células y la substancia fundamental.

Células (figs. 207 y 208). — Son relativamente voluminosas (de 14 á 24 μ), y afectan forma variable, esferoidal, ovoidea, y sobre todo semilunar. No viven aisladas, sino que se agrupan en familias (fig. 207, B) de dos, cuatro ó más individuos (grupos *isogénicos* de Renaut). El examen micrográfico de cortes finos teñidos por el carmín ó hematoxilina nos presenta en cada célula cartilaginosa: el protoplasma, el núcleo y las inclusiones.

El *protoplasma* aparece granuloso, á veces reticulado: después de la muerte y bajo la influencia de los reactivos se retrae dentro del condroplasma, mostrando un contorno desigual; carece de inclusiones en el cartílago joven; pero desde la edad

adulta aloja gotas grasientas que llegan á atrofiar el protoplasma y hacer irreconocible el núcleo. El yodo tiñe en moreno ciertos granos formados por *materia glicógena*. En fin, los estudios de Hennegny, Lowenthal, Retterer, Duesberg (1909); Meves (1910) en los vertebrados inferiores, y los de Renaut (1909) y Dubreuil (1911) en los mamíferos, nos informan acerca de las mitocondrias, que se presentan bajo dos aspectos: largas, filiformes y flexuosas *(condriocontes)*, y cortas y glandulares *(condriosomas)*.

El *núcleo* es único, esferoidal, rico en cromatina y yace, por lo común, en el centro de las células.

Fig. 207. — Células cartilaginosas de los cartílagos nasales del hombre. Coloración por la hematoxilina y tratamiento ulterior por el ácido acético. — A, substancia fundamental; B, familia de muchas células; C, grupos nucleares de dos.

El método del urano-formol revela en cada célula cartilaginosa un aparato reticular de Golgi confinado en un lado del protoplasma junto al núcleo. Cuando la célula se divide, el retículo se dispersa, convirtiéndose en gránulos ó bacilos sueltos, según han mostrado las observaciones de Deineka (1912) y Fañanás (1913). La posición del aparato de Golgi con relación á la superficie cartilaginosa es variable. Nótase, sin embargo, como mostramos en la figura 208, que en las células superficiales, dicho retículo suele situarse por debajo del núcleo, mientras que en las profundas reside en cualquiera dirección. En los elementos recién divididos dicho aparato se coloca en la misma región del protoplasma con relación al plano de partición (fig. 208, *e*). Por lo demás, el primer autor que señaló en la célula cartilaginosa el citado aparato reticular fué Pensa (1909).

Varía algo la disposición de las células, según su proximidad á la superficie cartilaginosa. Así, en los cartílagos costales como en los de incrustación las zonas superficiales contienen corpúsculos pequeños, aplanados y numerosos; mientras que en las partes profundas estos elementos se muestran escasos, voluminosos y más ó menos esferoidales (fig. 209, C). En fin, en los cartílagos articulares las células vecinas al hueso se disponen á menudo en series ó columnas perpendiculares al plano cartilaginoso.

Substancia fundamental. — En condiciones apropiadas deja percibir cuatro cosas: las cápsulas, las fibrillas condrígenas, los cordones permeables y las placas fibroides.

Cápsulas (fig. 207). — Si se examina cuidadosamente la materia fundamental próxima á las células, se nota un limbo ó atmósfera espesa, vagamente separada del resto de la substancia intercalar, pero rigurosamente limitada del protoplasma. Esta corteza de materia fundamental es la *cápsula* y representa, no una membrana celular fundamental, sino el último producto de secreción de la célula cartilaginosa. En ciertas condiciones, puede notarse que la materia intersticial entera es reductible á cápsulas empotradas las unas en las otras, de todas las cuales, sólo la últimamente engendrada, es decir, la fronteriza á cada célula, se percibe con entera claridad. Esta última acredita una composición química algo diferente que el resto de la materia intersticial, puesto que si se tiñe el cartílago por la hematoxilina y se trata después con el ácido acético, todo se decolora menos las cápsulas recientes que retienen enérgicamente el color. Mörner, sin tener conocimiento de esta observación nuestra, ha indicado que la cápsula está construída de un producto especial que llama *globos de condrina,* fundándose en que en la coloración con el violeta de metilo y la *tropeolina* las cápsulas resultan azules y la materia intersticial amarillenta.

Fibrillas de condrina. — Cuando se examinan con fuertes aumentos cortes finos de cartílago previamente macerados en hipermanganato potásico, cloruro de sodio al 10 por 100, etc., toda la materia intersticial aparece formada de unas hebras finísimas, estrechamente entrecruzadas y unidas entre sí á favor de un cemento sólido y transparente.

La naturaleza de estas fibrillas es poco conocida; en general, se supone que en ellas reside la condrina ó sus factores componentes.

Fibras permeables (fig. 209). — Cuando á ejemplo de ciertos autores (Spina, Spronck, etc.), se observan en el alcohol finos cortes de cartílago joven, la materia fundamental se muestra cruzada en ciertos sitios por unos hacecillos relativamente espesos, que llamaremos, por alusión á su probable oficio, *fibras permeables*. El curso de estas fibras varía algo en las diversas

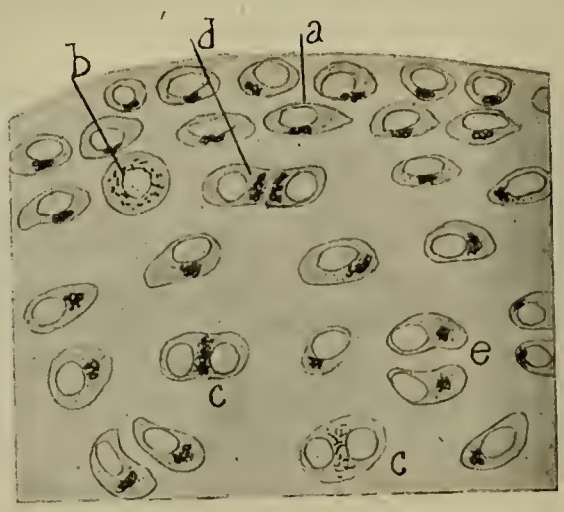

Fig. 208. — Trozo del cartílago de incrustación de una articulación de conejo de ocho días. Proceder del formol-urano. — *a*. Células cartilaginosas superficiales; *b*, célula en fase de ovillo; *c*, fases de ovillo hijo; *d*, familia celular. (Lo teñido en negro es el aparato de Golgi).

zonas del cartílago; así, si nos fijamos en la capa periférica de un cartílago costal, dichas fibras aparecen orientadas en sentido radial, arrancando del pericondrio y marchando hacia adentro para terminar en el espesor de las primeras cápsulas; en las zonas centrales la orientación es muy otra, pues las fibras permeables constituyen manojos que, irradiando de una cápsula, se terminan en las de los vecinos elementos (fig. 209, C).

La naturaleza y significación de las fibras permeables distan mucho de estar esclarecidas. Para Solgér trataríase meramente de fruncimientos ó arrugas intersticiales producidos por el alcohol en la materia fundamental del cartílago; pero la mayor par-

te de los autores se inclinan á estimar tales fibras como cordones porosos, formados de una substancia que goza de gran poder de imbibición (1). Recientemente, hemos logrado teñirlos por el nitrato de plata reducido.

No son, pues, conductitos preexistentes llenos de plasma, como creían Bubnoff y Budge, por cuanto jamás se muestran en los cortes finos del cartílago bajo la forma de agujeros; pero re-

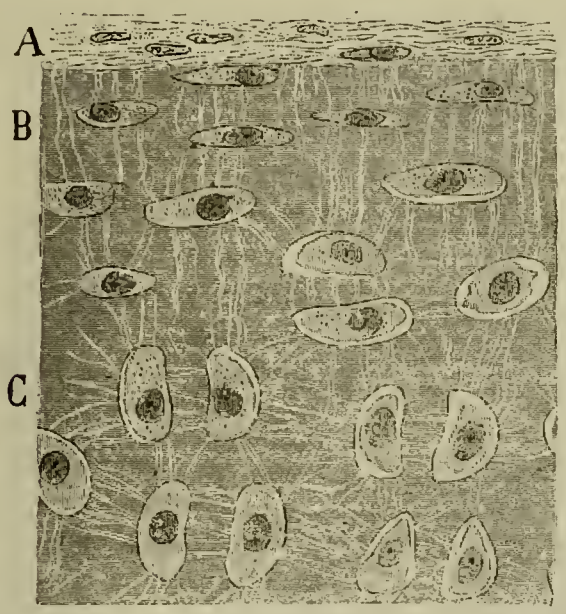

Fig. 209. — Cartílago costal del perro joven. Examen en alcohol. — A, pericondrio; B, células superficiales aplanadas; C, células profundas. Las fibras blancas que cruzan el fondo son las permeables.

presentan substancialmente la misma disposición, pues á lo largo de dichas fibras se filtran los jugos absorbidos en el pericondrio, y gracias á ellas puede llegar el nutrimiento hasta las células cartilaginosas centrales, que son las más alejadas de la fuente vascular. Parecida opinión sustentan Flesch, Kölliker y van der Stricht, para quienes los pretendidos conductores representan simplemente vías de predilección seguidas por las corrientes plasmáticas á través de la materia interfibrilar cartilaginosa.

(1) Véanse nuestras observaciones insertas en el *Manual de Histología normal* y en *La Crónica Médica*, Valencia, 1887.

Placas fibrosas. — En los territorios más lejanos de las cápsulas, la materia fundamental del cartílago adulto, y particularmente la del cartílago viejo, presenta unos islotes irregulares colorables en rojo intenso por el carmín.

En estos islotes la materia intersticial se ha transformado en un paquete de fibras gruesas, brillantes, á veces granulosas, frecuentemente entrecruzadas en ángulos agudos.

Fig. 210. — Cartílago hialino de la cabeza del calamar. Células cartilaginosas estrelladas dispuestas en pléyades. Fijación en ácido ósmico. Coloración en hematoxilina.

Se ignora la naturaleza de estas formaciones, que no se ven jamás en el cartílago joven (*degeneración amiántica* de algunos autores).

En los viejos, la materia fundamental se calcifica parcialmente. En algunos cartílagos, por ejemplo, en los de la laringe, comienzan ya los depósitos calcáreos en el adulto.

El cartílago de la cabeza de los cefalópodos es interesante por varios motivos. Las células carecen de cápsulas aparentes, y de la periferia protoplásmica, de figura asteriforme, emergen apéndices cóni-

cos que se ramifican dicotómicamente, adelgazándose las ramillas y terminando en puntos de extrema tenuidad. Casi toda la materia intersticial está llena de tales apéndices, cuyo aspecto granuloso, frecuentes dicotomías y colorabilidad al carmín son caracteres que los diferencian netamente de las fibras permeables. En la fig. 210 mostramos un corte de este cartílago tomado del calamar.

VARIEDADES CARTILAGINOSAS RETICULAR Y ELÁSTICA

Cartílago reticular elástico. — De esta modalidad histológica está construída la epiglotis, el cartílago de la oreja, parte del aritenoides y los cartílagos de Santorini y de Wrisberg.

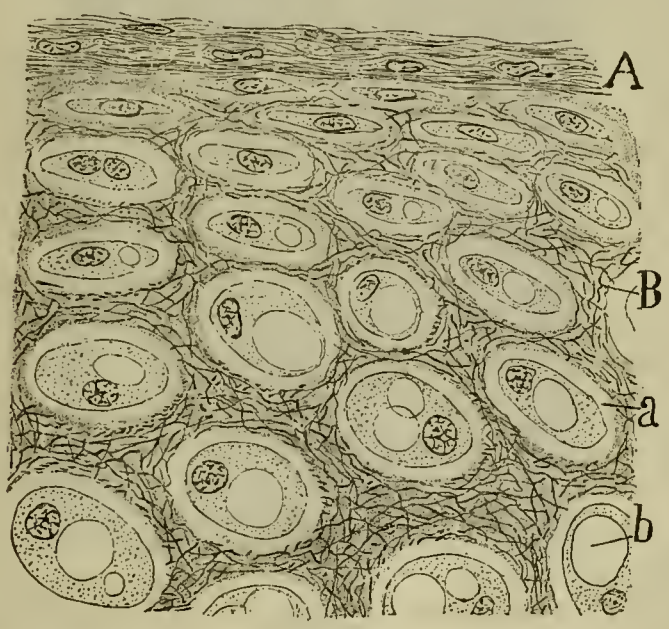

Fig. 211. — Cartílago reticular ó elástico de la oreja del conejo. — A, pericondrio; B, materia fundamental con las fibras elásticas; *a*, cápsula hialina; *b*, gota de grasa.

Las *células* son voluminosas (de 15 á 30 μ), de figura aplanada en las zonas superficiales del cartílago y esferoidales ú ovoideas en las profundas. Una espesa cápsula las separa de la materia intersticial, en la cual (y este es el rasgo típico de esta variedad cartilaginosa) se advierten multitud de fibras elásticas finas, dispuestas en red apretada (fig. 211, B). Estas fibrillas son más escasas cerca del pericondrio que en las regiones centrales del

cartílago, y en su disposición plexiforme se las ve respetar las cápsulas que aparecen formadas por una materia homogénea. Las gotas de grasa intracelulares son la regla en esta variedad cartilaginosa (fig. 211, *b)*.

Cartílago fibro-conjuntivo. — Asienta en los discos intervertebrales, meniscos y rodetes articulares de la diartrosis, cartílagos tarsos y nódulos sesamoideos de los tendones.

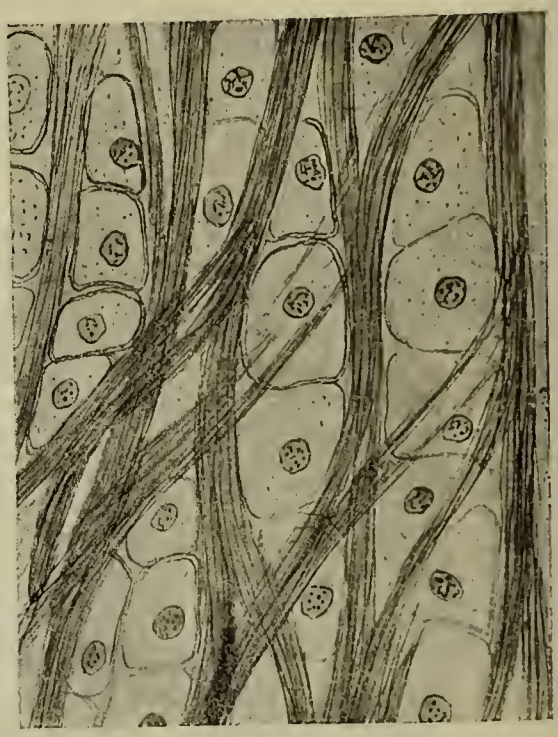

Fig. 212. — Fibrocartílago de la rana (nódulo sesamoideo del tendón de Aquiles).

El *fibro-cartílago* hállase también en los parajes en que los tendones se insertan sobre piezas cartilaginosas, por ejemplo, al nivel de la inserción del tendón de Aquiles en el calcáneo.

Las *células* son pequeñas, esferoidales ú ovoideas, y exhiben una fina cápsula envolvente.

La *materia fundamental* consta de hacecillos conjuntivos resistentes y paralelos como los del tendón. Esta disposición obliga á las células á orientarse en series más ó menos regulares, situadas en los espacios interfasciculares.

Como es frecuente ver variada la dirección de los haces conjuntivos en cada plano de estos cartílagos, los corpúsculos se alinean á menudo en series perpendiculares unas á otras. En el *cartílago sesamoideo* del tendón de Aquiles de la rana (fig. 212), la trama conectiva es más irregular y las células son más abundantes y voluminosas.

Propiedades fisiológicas. — Carece el cartílago de nervios y de capilares sanguíneos, nutriéndose parásitamente de los jugos circulantes por los órganos vecinos. En las ternillas nasales, costales y del árbol aéreo, la materia cartilaginosa yace rodeada de una membrana fibrosa, el *pericondrio*, provisto de una red vascular bastante tupida, desde la cual, y por mediación de las fibras permeables, el plasma sanguíneo puede irrigar las profundidades del cartílago. A pesar de lo cual, la vitalidad de las células cartilaginosas centrales se ve comprometida, como lo prueba lo frecuente que es hallarlas henchidas de gotas grasientas y hasta completamente destruídas por las degeneraciones adiposa y calcánea.

Propiedades químicas. — Es creencia general que la materia fundamental cartilaginosa consta de una materia colágena especial, la *condrina* de Müller, susceptible de convertirse por la cocción en jalea; pero los modernos estudios parecen probar que la condrina es una mezcla de otros principios: *ácido condrótico*, la *albúmina*, la *cola* y cierta cantidad de sales alcalinas. El cartílago contendría también la *albumoide*, la *condromucoide* y *elastina;* el *ácido condroítico sulfúrico* y la *colágena* (Boedecker, Mörner, Kössel, Morochowitz).

La *condromucoide* es una materia protéica insoluble en agua, fácilmente soluble en los álcalis y precipitable por los ácidos. Hervida con ácidos ó álcalis diluídos, se descompone en dos series de cuerpos: de una parte, *peptonas*, *albúminas alcalinas ó ácidas,* y de otra, el *ácido condroítico sulfúrico.* Este ácido pasa por ser un éter sulfúrico ácido que, por hidrolisis, da ácido sulfúrico y una base orgánica, la condroitina; á su vez, desdóblase ésta en ácido acético y otra substancia parecida á los azúcares, aunque cuaternaria: la *condrosina*.

La *albumoide* es similar de la keratina, con la que comparte

su refractariedad á los reactivos químicos. Insoluble en agua, poco soluble en los ácidos y álcalis, se la puede obtener del cartílago después de haber extraído de éste todos los demás principios protéicos que le integran. Difiere de la elastina por contener más azufre, y de la keratina por ser soluble en el jugo gástrico. La albumoide sólo se presenta en los cartílagos del adulto ó del viejo (Mörner).

La *colágena* reside de preferencia en las zonas periféricas de los cartílagos reticulares y costales. Abunda también en el fibro-cartílago.

Histogenesis. — El cartílago fetal se forma desde luego alrededor de la notocorda y en los que, andando el tiempo, serán cuerpos vertebrales. Proviene del mesodermo y sus rudimentos confúndense, en un principio, con los del tejido conectivo. Según Studnicka (1902), las células conectivas especiales destinadas á los rudimentos cartilaginosos serían estrelladas y engendrarían una red, á favor de las anastomosis de sus expansiones. Más adelante, y en cuanto las células se congregan y aprietan para engendrar el cartílago primordial, perderíanse las expansiones. Las modificaciones ocurridas en los órganos cartilaginosos, son las siguientes:

1.ª *Cartílago primordial.* — Consta de células poliédricas ó estrelladas, separadas por escasa cantidad de una materia homogénea y más ó menos sólida. Las cápsulas no son todavía aparentes (fig. 213, A). En esta fase, el aparato de Golgi no está todavía concentrado, consistiendo en granitos y bacilos dispersos comparables á mitocondrias.

Esta modalidad cartilaginosa, construída casi exclusivamente de células, se mantiene durante toda la vida en los *ciclostomos*, donde los condroblastos adoptan forma irregularmente ovoidea ó esferoidal, tocándose por sus cápsulas.

2.ª *Cartílago fetal.* — Las células se redondean, y en su torno se deposita una delgada cápsula (fig. 213, B). La materia fundamental se acrece por la fusión de las cápsulas de los elementos limítrofes, y á causa de que, después de cada división celular, los corpúsculos hijos segregan nuevas cápsulas, que se reunen á las elaboradas por las células progenitoras. La cápsula marca el

trabajo realizado porcada célula en el intervalo de dos segmentaciones; por consiguiente, nada más fácil que deducir, por el examen de las cápsulas, el número de divisiones ocurridas en una familia celular. La forma de los grupos depende de la dirección constante ó variable del plano de partición. Si á cada segmentación el plano varía en ángulo recto y según las tres dimensiones del espacio, el grupo aparecerá en forma de paquete (cuatro delante y cuatro detrás). Si el plano se mantiene paralelo á sí mismo, se engendrarán columnas celulares *(grupos axiales* de

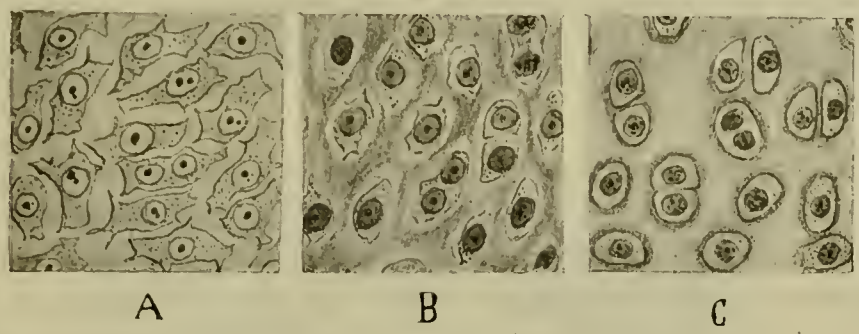

Fig. 213. — Fases histogénicas del cartílago cefálico del embrión de pollo.— A, cartílago primordial (cinco días de la incubación); B, cartílago fetal (nueve días de la incubación); C, cartílago joven.

Renaut); en fin, la forma en corona *(grupos coronarios* de Renaut), resulta de una especie de rotación más ó menos regular del plano de partición en torno de un eje imaginario.

Llegada esta fase, las expansiones celulares, así como las formas esquinadas del soma, han desaparecido en la inmensa mayoría de los condroblastos. Sin embargo, en algunos cartílagos embrionarios (huesos en fase cartilaginosa) pueden subsistir todavía elementos con expansiones y hasta con anastomosis, según hacen notar recientemente Srdinko (1902) y Ficher (1903). En este período evolutivo la irrigación nutritiva verificaríase muy activamente.

En fin, según aparece en la fig. 214, que copia un cartílago craneal del embrión de pollo de doce días, el aparato reticular de Golgi preséntase bien modelado, concentrándose junto al núcleo y en un lado del soma. Según dijimos más atrás, al segmentarse las células, repártense también en los elementos hijos los bacilos y gránulos del aparato de Golgi, disociado y disperso durante las primeras fases de la mitosis. Formados los elementos hijos, el aparato reticular se disloca, corriéndose hacia el contorno opuesto del núcleo *(f, g)*.

Acerca de la disposición morfológica de las células cartilaginosas primordiales, y el mecanismo productor de la materia fundamental primitiva, no existe unanimidad en los autores. Por ejemplo, en sentir de Retterer, en un principio las células mesodérmicas precartilaginosas constituirían un protoplasma continuo, salpicado de núcleos; ulteriormente, la porción intermediaria de este protoplasma común se diferenciaría para generar materia intercelular y adquirir las propiedades de la colágena. Por su parte, Renaut y Dubreuil (1910), sin negar las anastomosis iniciales de las células (uniones establecidas, no mediante protoplasma continuo, sino á favor de cordones delgados y cortísimos), sostienen que la materia fundamental surge al principio, fuera de los protoplasmas; se retirarían de ella como de un medio adverso las prolongaciones celulares, hasta desaparecer por completo. Parte de estos apéndices serían acaso destruídos por una suerte de autolisis.

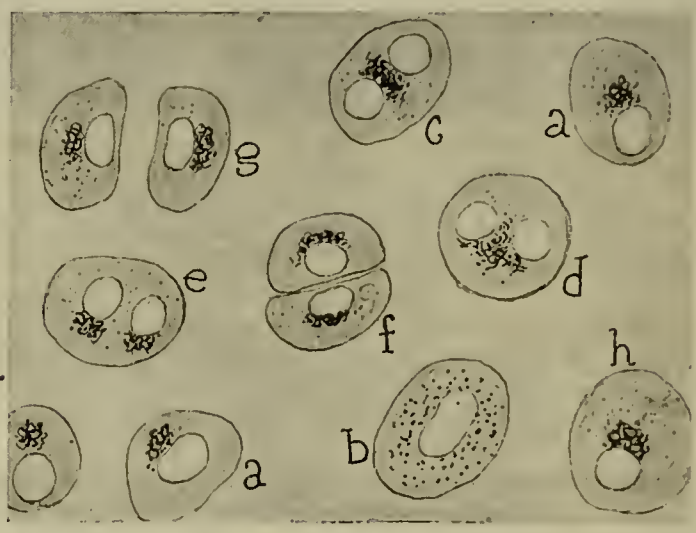

Fig. 214. — Células cartilaginosas de la base del cráneo. Embrión de pollo á los doce días de la incubación. Método del urano-formol. — *a*, Células cartilaginosas en descanso; *b, c, d*, fases de partición del aparato de Golgi.

La disposición anastomosada señalada por Renaut y Dubreuil constituye hecho real, pero corresponde á una fase anterior á la diferenciación propiamente cartilaginosa, es decir, á aquellas masas formadas por elementos mesodérmicos estrellados, todavía incapaces de elaborar materia intersticial semisólida.

El *crecimiento* del cartílago se verifica de tres maneras: por división de las células cartilaginosas, por yuxtaposición de cáp-

sulas sucesivamente elaboradas y por transformación en cartilaginosas de las células más profundas del pericondrio. Este último origen parece ser el más importante, dado que el crecimiento experimentado por el cartílago desde la época embrionaria es enorme y no podría explicarse por el corto número de divisiones que sufre una célula cartilaginosa primordial (estas divisiones no suelen pasar en conjunto de seis á ocho).

En los cartílagos costales, auriculares, etc., es muy fácil demostrar que una parte de la materia fundamental periférica no es otra cosa que una condensación de los haces conjuntivos del pericondrio. En efecto, dicha materia fundamental periférica atrae, á la manera de los haces conjuntivos, los colores ácidos, en tanto que las cápsulas, es decir, la obra secretoria de las células, toma con avidez los tintes básicos de anilina (1).

En el fibrocartílago conectivo, por ejemplo, en el de los nódulos sesamoideos de la rana (fig. 212), toda la trama intersticial se mantiene acidófila, dado que consta de fascículos colágenos ordinarios. En cuanto á la cápsula, sumamente delgada, apenas muestra reacción basiófila.

Preparación del tejido cartilaginoso. — *Variedad hialina.— Células.—* Para demostrar todos los detalles relativos á las células, convendrá elegir como objeto de examen el cartílago pubiano ó el del femur de la rana. Los cortes, ejecutados en fresco, se examinarán en su propio plasma ó en una gota de licor salino indiferente. A fin de revelar los núcleos y discernir el retículo del protoplasma, se tratarán los cortes por una gota de solución verde de metilo acetificado. Podrán tambien estudiarse las células con provecho en los cartílagos costales de mamíferos jóvenes. Los métodos anteriores son también aplicables aquí.

Para obtener preparados definitivos de células, es preciso que el cartílago haya sido fijado de antemano y coloreado después; de otra suerte, los protoplasmas se retraen, y los núcleos se tiñen imperfectamente. La fijación podrá alcanzarse macerando las piezas cartilaginosas por varias horas en ácido pícrico á saturación, en alumbre en solución concentrada ó también en ácido ósmico por doce horas. El licor de Kleinenberg cabe asimismo utilizarse. Después de permanecer varias horas en cualquiera de estos líquidos, se tratarán las pie-

(1) Véase *Terrazas:* Métodos de coloración de la substancia fundamental cartilaginosa. *Rev. trim. microgr.*, 1896.

zas por el alcohol, y se teñirán, ya por el picro-carminato, ya por la hematoxilina, bien por las anilinas. La tionina conviene perfectamente para esta coloración, pues merced á su propiedad metacromática, tiñe en rojo heliotropo la substancia fundamental y en azul los núcleos.

Todavía dará más bellos resultados nuestro método de triple coloración (pág. 128), pero á condición de no decolorar demasiado con el alcohol.

Cápsulas. —Se demuestran muy bien examinando cortes de cartílago costal humano en una solución salina al 10 por 100. Si los cortes, fijados antes por el alcohol, se tiñen con hematoxilina y se aclaran por el ácido acético, las cápsulas se presentarán de color violeta, tanto más intenso, cuanto más recientes.

Las cápsulas se coloran igualmente bien por el método de Gieson y el nuestro de la triple coloración. En general, todo color ácido (fuchina ácida, azul de índigo, etc.), selecciona bien el pericondrio y regiones cartilaginosas superficiales, en tanto que las cápsulas atraerán los colores basiófilos (fuchina básica, azul de metileno, hematoxilina, etc.)

El método de Morner, que consiste en teñir los cortes primeramente con violeta de metilo y después con tropoelina, es también excelente.

Fibrillas condrígenas. — Para evidenciarlas, se macerará por unos días en solución salina al 10 por 100 un trozo de cartílago costal ó articular de mamífero. El examen de finos cortes en el mismo vehículo demuestra en la trama cartilaginosa la existencia de hebras sumamente finas. El método de las digestiones artificiales (solución de tripsina en un soluto de ácido salicílico, maceración de los cortes por algunos días en este líquido á la temperatura de 37°, examen de los mismos en agua salada), hará bastante perceptibles las fibrillas de Tillmanns. Las soluciones de hipermanganato de potasa y la cocción no muy prolongada del cartílago, son también útiles bajo este aspecto. En todo caso, se utilizarán cartílagos frescos procedentes de hombre adulto ó de grandes mamíferos.

Fibras permeables ó conductos de Budge. —El procedimiento más expedito y demostrativo es el de Spina: induración del cartílago fresco en alcohol fuerte y ejecución de cortes finos que se examinarán también en alcohol. Para efectuar cortes perpendiculares en los cartílagos articulares, recomienda Spronck el alcohol con algunas gotas de ácido nítrico. Este licor decalcifica el hueso sin dañar en lo más mínimo las fibras permeables.

Placas fibroides. — Con el fin de ponerlas de manifiesto, se tratará un cartílago costal de hombre adulto por el picro-carminato, y luego por el ácido acético. Las placas fibroides aparecerán coloreadas

en rosa, que contrastará con el color blanco del resto de materia fundamental. Si antes de la acción del ácido acético se tiñe la preparación con hematoxilina, la coloración será doble : las cápsulas se mostrarán violadas, rojos los núcleos y placas fibrosas, é incolora la materia fundamental.

En fin, el cartílago reticular ó elástico podrá estudiarse, á más de los métodos ordinarios, por el de la orceína y el de la kresofuchina, colores que impregnan bien las fibras elásticas (véase *Preparación del tejido conectivo.*

CAPÍTULO XVI

TEJIDO ÓSEO

Definición. — El tejido óseo consiste en una trama compuesta de una materia fundamental laminar, incrustada de sales calcáreas, en cuyo seno se hallan huecos de forma estrellada ocupados por las células.

Caracteres físicos y distribución general. — Reside este tejido en todos los huesos de los vertebrados, excepción hecha de los peces óseos, cuyo esqueleto presenta una estructura semejante al marfil. Macroscópicamente, un corte de hueso manifiesta una trama blanca, dura, incrustada de sales, y numerosas cavidades ocupadas por la médula y los vasos. Cuando estas cavidades son pequeñas, casi invisibles á la simple vista, el hueso se llama *compacto;* si son más amplias que los tabiques óseos y poseen forma areolar, el hueso se llama *esponjoso;* y por último, denominase *reticular* cuando la urdimbre sólida es filamentosa y se dispone en red de tres dimensiones. Estas diferencias macroscópicas no implican diversidad de constitución histológica, porque cada trabécula ósea, cualquiera que sea el hueso de que provenga, presenta exactamente la misma estructura.

Caracteres micrográficos. — El hueso fresco examinado al microscopio, previa decalcificación, nos revela las siguientes partes: materia fundamental, conductos de Havers, lagunas óseas, conductos calcóforos, fibras de Sharpey y células óseas.

Conductos de Havers. — Así llamados en honor de su descubridor Clopton Havers, son unos conductos cilíndricos, de diámetro variable (oscila entre dos centésimas y tres décimas de milímetro), que constituyen en el espesor de la materia fundamental una red de extensas y cuadrangulares mallas. Comunican hacia afuera con la superficie del hueso, desembocando en

los finos conductos nutricios, y desembocan por dentro en el conducto medular ó en las diversas areolas del tejido esponjoso. En la diáfisis de los huesos largos, las redes forman mallas longitudinales y paralelas al eje; en los huesos anchos, la reticulación es radiada y parecida á la tela de una araña; en los huesos cortos no existe orientación dominante.

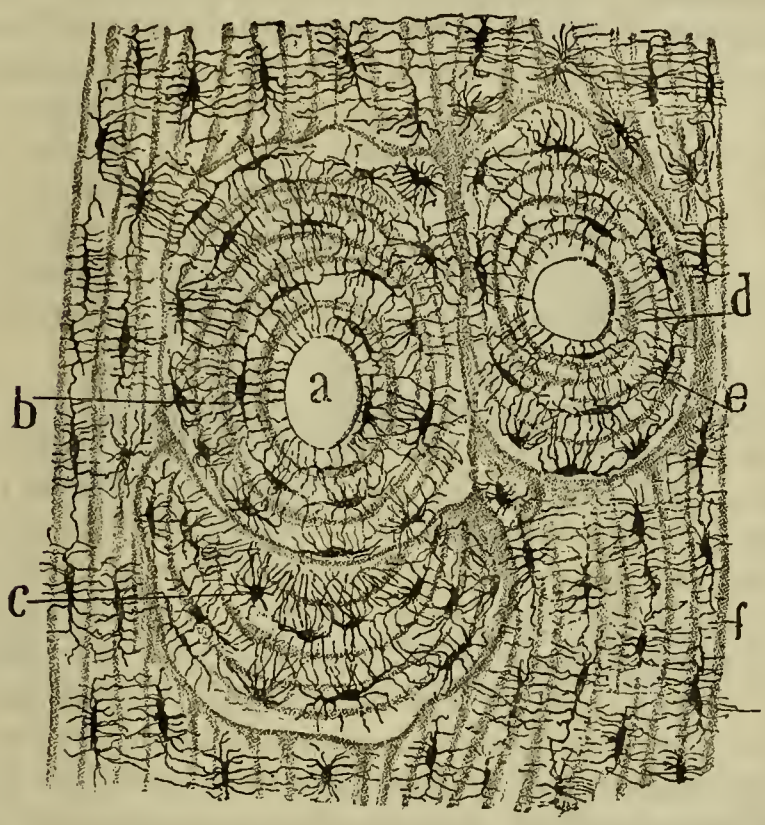

Fig. 215.—Corte transversal de un hueso largo. Las cavidades aparecen negras por estar llenas de aire. — *a*, conducto de Havers cortado de través; *b*, lagunas óseas; *c*, lagunas óseas de un sistema de Havers en parte reabsorbido; *d*, zona obscura de una laminilla; *e*, zona clara; *f*, laminillas fundamentales externas.

Contienen los conductos de Havers de regular calibre una pequeña arteria, una vénula y algunos osteoblastos periféricos, restos todavía de la época osteogénica. Los conductos más finos encierran exclusivamente un capilar. Ciertos autores mencionan aún cierto espacio linfático que rodearía el capilar, separándole de la superficie ósea.

Materia fundamental. — La substancia que sirve de fondo á las cavidades del hueso no es homogénea, sino estratificada; y los estratos ó laminillas representan hojas cilíndricas íntimamente adheridas entre sí y dispuestas en torno del hueso ó de los conductos de Havers, como las capas concéntricas del tronco de un árbol. Distínguense, por su situación, cuatro clases de laminillas: *láminas fundamentales externas ó tangenciales,* las cuales rodean, en número de 10 á 20, la superficie total del hueso; *láminas fundamentales internas*, que en número generalmente menor constituyen un revestimiento en el conducto central ó en las areolas del hueso; *laminillas ó sistema de Havers* (figura 215, *b*), que contornean los conductos de este nombre; y, finalmente, *láminas intermediarias,* que son aquellas capas, por lo común interrumpidas, concéntricas á las láminas fundamentales, que rellenan los intersticios existentes entre los sistemas ó laminillas de Havers (fig. 215, *f*).

Cuando se examinan las laminillas en cortes óseos finos y conservados en bálsamo del Canadá, nótase que cada una de ellas consta en realidad de dos zonas: una *granulosa y obscura,* y otra *brillante y finamente estriada* á lo largo (fig. 215). Si la laminilla observada pertenece á un sistema de Havers cortado de través, la zona clara mira hacia adentro y la granulosa hacia afuera; lo contrario sucede si el corte es paralelo ó longitudinal á dicho conducto. Estas propiedades, junto con el aspecto que las laminillas ofrecen en los cortes de hueso, decalcificados y macerados en cloruro de sodio al 10 por 100, han conducido á Ebner y Kölliker á una noción sobre la estructura de las laminillas que ha sido aceptada por casi todos los autores (fig. 216).

Cada lámina está formada de una doble zona de hacecillos conectivos finísimos, de 1 á 3 μ de espesor. Semejantes hacecillos, cuya fibrilación aparece un poco incierta á consecuencia de los cambios inducidos por la calcificación, afectan en cada zona de las laminillas dirección diferente, á menudo contrapuesta. La zona llamada granulosa (fig. 216, A), aparece tal por presentar los hacecillos cortados de través; y la zona brillante y estriada debe su aspecto á que dichos fascículos se muestran cortados á lo largo (fig. 216, B).

Finalmente, los hacecillos que por su adosamiento constituyen cada zona, no marchan precisamente paralelos; á menudo se cruzan en ángulos agudos dejando unos agujeros para el paso de los conductos calcóforos (fig. 216, *c*); mas en todo caso, los haces de una zona afectan una orientación dominante casi perpendicular á la seguida por los de las zonas inmediatas.

Lagunas y conductos calcóforos (fig. 215, *c*). — En el espesor de las laminillas, y siguiendo su misma dirección, hállanse esculpidas unas cavidades estrelladas donde se alojan las células óseas.

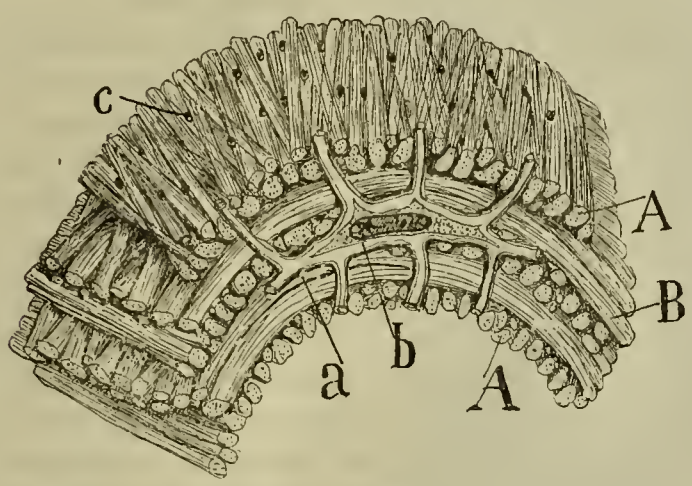

Fig. 216. — Representación esquemática de la estructura de las laminillas de la materia fundamental ósea de un sistema de Havers. — A, haces de las zonas granulosas; B, haces de las zonas hialinas ó estriadas; *a*, pared del osteoplasma; *b*, célula ósea.

Estas cavidades, llamadas *lagunas óseas* ú *osteoplasmas,* son aplanadas en el sentido de las laminillas y alargadas en la dirección de los conductos de Havers ó del eje del hueso. Su longitud es de 14 μ, poco más ó menos, y su espesor de 4 μ.

De la periferia de las lagunas óseas brotan numerosos conductitos, los *conductos calcóforos,* de 1 á 2 μ de diámetro, ramificados en su camino y anastomosados con los de las lagunas concéntricas ó exteriores inmediatas (fig. 215). Por su dirección pueden distinguirse los conductos calcóforos en *convergentes* (los que marchan radialmente hacia adentro), los *divergentes* (los que van en sentido contrario á los anteriores) y los *circunferenciales* (los orientados según el arco de las laminillas para enla-

zarse con los osteoplasmas del mismo estrato). Los conductitos procedentes de la laminilla más periférica de un sistema de Havers suelen retornar á su punto de nacimiento, anastomosándose con los compañeros *(conductos recurrentes)*, y los conductitos convergentes de la primera ó más concéntrica hilera de osteoplasmas desembocan en el conducto de Havers. Finalmente, las lagunas de los estratos limitantes del hueso comunican con la superficie libre.

Tanto las lagunas como los conductos calcóforos, se muestran de color negro (á causa del aire que contienen) en las preparaciones de hueso macerado y seco. Si, á favor del bálsamo líquido ó de una esencia, se expulsa el aire, el corte se aclara y dichas cavidades se dibujan pálidamente, desapareciendo del todo sus contornos. Los cortes de hueso fresco revelan también vagamente los osteoplasmas y conductos calcóforos, advirtiéndose en éstos que contienen, no aire, sino un líquido plasmático transparente.

Células óseas (fig. 217, A). — En los cortes de hueso fresco ó decalcificados por los ácidos, aparecen dentro de las lagunas unos corpúsculos pequeños, fusiformes, llamados, en honor de su descubridor, *células de Virchow*. El núcleo es alargado y más ó menos homogéneo, y el protoplasma, por lo común, poco abundante, se acumula en los polos nucleares.

Varía mucho la disposición de estos corpúsculos según la edad del hueso. En los huesos embrionarios, ó procedentes de mamíferos jóvenes, el protoplasma es relativamente abundante, y se estira en expansiones finas insinuadas en los conductos calcóforos (fig. 217, A). Semejante disposición se muestra también en los huesos adultos de los urodelos *(pleurodeles Watlii)*. En los mamíferos adultos las células aparecen atrofiadas, y de sus expansiones no quedan más que los apéndices polares, libremente terminados en el osteoplasma. En torno de la célula existe un espacio considerable ocupado por el plasma. Membrana celular fundamental no puede discernirse; en cambio, las observaciones de Neuman, Virchow y otros, prueban que existe una cápsula de secreción, prolongada con la capa limitante de los conductitos calcóforos, y que no es más que la zona de materia funda-

mental calcificada más próxima á la laguna, zona que, bajo la acción de los ácidos, podría aislarse del resto de la substancia intersticial (fig. 216, *a*).

Fibras de Sharpey. — Cuando se examina un corte transversal de la diáfisis de un hueso decalcificado, se ven emerger de la cara interna del periostio unas fibras largas, flexuosas, á veces ramificadas, que atraviesan perpendicularmente las láminas fundamentales externas é intermediarias, sin rebasar jamás los límites de los sistemas de Havers.

Estas fibras son fascículos conjuntivos no calcificados, continuados con los del periostio, y los cuales, desde la época osteogénica, quedaron enterrados en el seno de la formación ósea periostal. Faltan constantemente en el hueso endocondral. En ocasiones, como Kölliker ha demostrado, contienen también fibras elásticas.

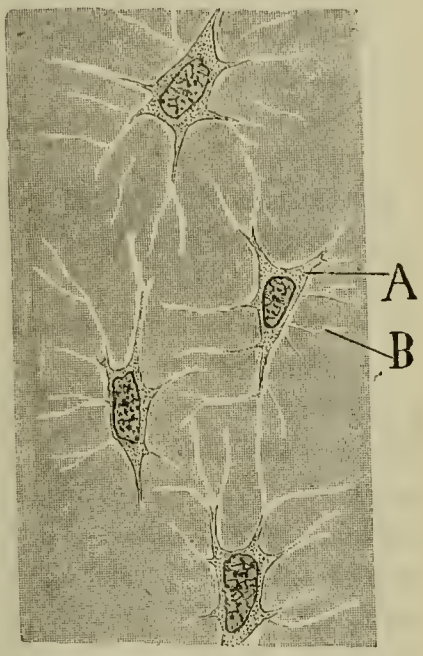

Fig. 217. — Pedazo de una concha de las fosas nasales de un conejillo de Indias de pocos días. Vista de plano de las células, que están coloreadas por el carmín. — A, protoplasma; B, conducto calcóforo. En el arranque de los tubitos penetran apéndices protoplásmicos.

Caracteres químicos del hueso. — El tejido óseo está construído de dos materiales principales: *osteína,* substancia susceptible de convertirse en gelatina por la cocción, y las *sales,* entre las que dominan el *fosfato y carbonato de cal.* La unión de estas dos especies de materia es muy íntima, y sus proporciones relativas pueden considerarse como constantes é independientes del sexo y edad de los animales.

Según Ebner, las sales hallaríanse localizadas en la materia interfibrilar de las laminillas, constituyéndose los hacecillos exclusivamente de osteína; empero, las observaciones de Kölliker

y las nuestras enseñan que la repartición de ambas substancias es uniforme, comprendiendo hacecillos y materia fundamental (1).

He aquí las proporciones en que, según Berzelius, entran los componentes del hueso:

Substancias orgánicas...	Osteína.....	32'17
	Materia irreductible por la cocción.....	1'13
Substancias minerales...	Fosfato de cal.....	51'04
	Carbonato de cal.....	11'30
	Fluato de cal.....	2'00
	Fosfato de magnesia.....	1'16
	Sosa y clorhidrato de sosa.....	1'20

Propiedades fisiológicas. — El tejido óseo posee usos, pero no propiedades fisiológicas. Sus células, llegadas á la época adulta, pueden considerarse en vías de atrofia y son incapaces de proliferación. Lo que en dicho tejido vive es la médula y el periostio, á cuyas expensas se regenera el hueso después de una lesión ó fractura. Cuando el hueso es joven, los conductos calcóforos llevan á las células los jugos absorbidos, ora en la superficie perióstica y medular, ora en los capilares de los conductos de Havers; mas en el hueso viejo, esta irrigacióu nutritiva se dificulta á causa de la obstrucción creciente de muchos conductos calcóforos (sobre todo los que desaguan en los conductos de Havers) y del angostamiento de no pocos osteoplasmas.

Osteogénesis. — El tejido óseo es una formación secundaria y tardía, acaecida en el seno de otros tejidos, el cartilaginoso y fibroso. Cualquiera que sea su asiento, el proceso osteogénico presenta los mismos rasgos esenciales, reduciéndose en el fondo á un cambio en las propiedades fisiológicas de las células conjuntivas, las cuales adquieren la virtud de segregar una materia fundamental calcárea. Las dos formas que suelen distinguirse, á saber: la *osificación endocondral* y la *periostal* ó á expensas de tejido fibroso, no resultan diversas por el fondo, sino por la forma: en la osificación endocondral la secreción del hueso va precedida de la absorción del cartílago; mientras que en la osteogénesis á expensas del tejido fibroso, no existe trabajo pre-

(1) Véase nuestro *Manual de Histología y técnica*, pág. 475.

vio demoledor, depositándose la materia fundamental en la trama conectiva preexistente.

Osificación endocondral. — El proceso osteogénico no se desenvuelve simultáneamente en todo el espesor de cada cartílago del esqueleto embrionario, se inicia en ciertos parajes, constantes en número y posición para cada hueso, que se llaman *puntos de osificación*.

Cuando se examina al microscopio un fino corte de un punto ó zona de osificación del cartílago endocondral, atrae nuestra atención una serie de cambios estructurales que enlazan, por suaves graduaciones, el cartílago normal con el hueso neoformado. Estos cambios, reveladores del mecanismo osteogénico, pueden distinguirse por zonas que son, á partir del territorio cartilaginoso indiferente, las siguientes:

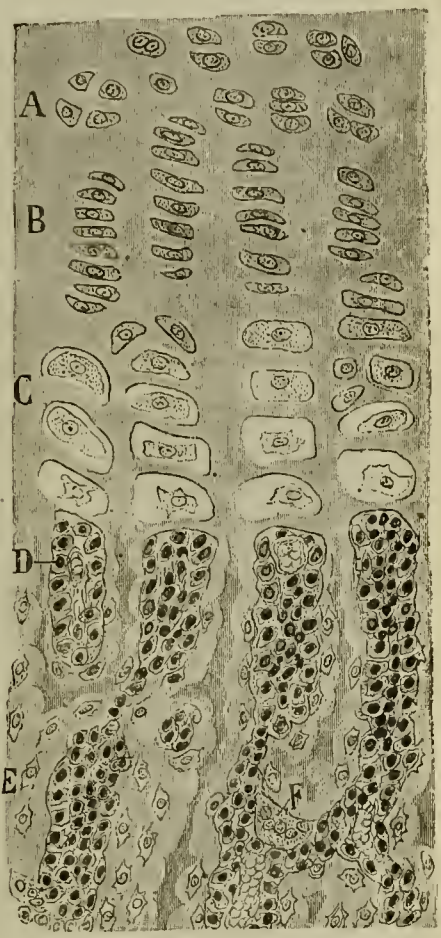

Fig. 218.—Osificación endocondral. Corte de un metacarpiano de perro recién nacido. Decalcificación en ácido pícrico. —A, zona de proliferación de las células cartilaginosas; B, zona de las células seriadas; C, zona de los grandes condroplasmas; D, zona de los espacios medulares; E, tiras óseas recién formadas; F, osteoclasto al nivel de una tira ósea interrumpida.

Zona proliferante. — Iníciase el proceso osteogénico por el aumento de volumen de las células cartilaginosas, así como por la celeridad de sus divisiones. Abundan en esta zona las células con dos núcleos y las cápsulas que encierran dos ó cuatro células recién engendradas (fig. 218, A). El aparato de Golgi es pequeño y denso, dividiéndose también en cada partición celular.

Zona de células seriadas. — Las familias celulares, fruto de la proliferación, se disponen en series ó hileras paralelas y perpendiculares al plano de osificación. Las células de cada grupo se aplanan y aproximan por sus caras, ganando en talla conforme se acercan á la zona siguiente (fig. 218, B). Como mostramos en la figura 220, el aparato de Golgi gana sucesivamente en robustez, situándose habitualmente en un lado ó punta protoplásmica del condroblasto (A). Cuando éste contiene dos núcleos *(a)*, el citado aparato sitúase entre ambos, formando una especie de placa ecuatorial. En fin, el protoplasma inicia la formación de vacuolas.

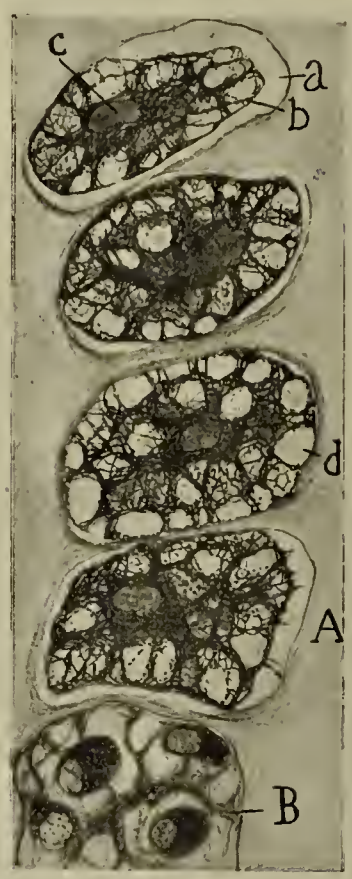

Fig. 219. — Detalles de las células habitantes en los grandes condroplasmas (A). Método de impregnación argéntica previa fijación en urano-formol. — *a*, condroplasma; *b*, retículo; *c*, núcleo; *d*, vacuolas; B, restos del retículo de un condroblasto dentro del espacio medular invadido por osteoblastos.

Zona de atrofia ó de los grandes condroplasmas. — La seriación celular se mantiene, mas no la disposición de las células que sufre grandes metamorfosis. Merced á un movimiento de absorción de la materia fundamental, amplíanse los condroplasmas, en cuyo interior se ven los elementos cartilaginosos marchitos, retraídos, sin señales de proliferación y provistos de un núcleo arrugado, poco capaz de teñirse por los reactivos de la cromatina. La materia fundamental comprendida entre las series se estrecha, mostrándose más ó menos calcificada (fig. 218, C).

El método argéntico (fijación al urano-formol) revela netamente el proceso de vacuolización, provocado por la afluencia de gran cantidad de líquido (fig. 219). Entre las gotas de plasma, el retículo

protoplásmico, de aspecto granuloso, destaca teñido en negro. La vacuolización acaba por desgarrar la porción periférica del soma, que se retrae y arruga después en harapos. El citado proceso de vacuolización reconócese, aunque menos aparente, en las preparaciones comunes (hematoxilina, etc.), según mencionan diversos autores y modernamente Renaut y Dubreuil (1911).

Es curioso notar las metamorfosis sobrevenidas en el aparato de Golgi. En la figura 220, tomada del trabajo de Fañanás (1914), aparecen reproducidas. Nótese que, á medida que nos acercamos á los espacios medulares, el aparato se hipertrofia, sus cordones se espesan y prolongan, diseminándose por una área considerable del soma y rodeando el órgano nuclear; finalmente, al nivel del último colosal condroplasma la red de Golgi se encoge y fragmenta destruyéndose, al parecer (fig. 220, *b*). Es muy posible que estos cordones correspondan á las mitocondrias filamentosas señaladas por Renaut y Dubreuil en preparaciones teñidas por el método de Regaud.

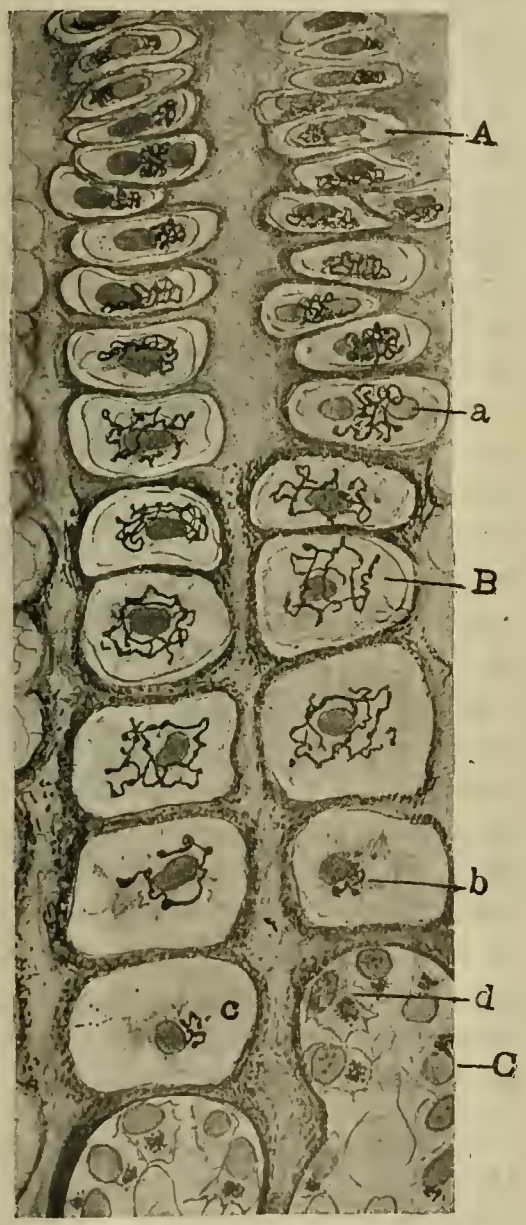

Fig. 220. — Cartílago osificante de la epífisis tibial de un conejo de cuatro días. Método del nitrato de plata reducido (fijación en formol). — A, cartílago seriado; B, zona de los grandes condroplasmas; C, espacio medular; *a*, aparato de Golgi ecuatorial en un condroblasto binucleado; *b*, *c*, reducción y fragmentación del retículo en la vecindad del hueso; *d*, osteoblastos con aparato de Golgi diminuto.

Zona de las lagunas medulares. — Durante

la fase anterior, numerosos capilares brotan de la red del pericondrio, los cuales, escoltados por rico cortejo de corpúsculos conectivos embrionarios, invaden la zona de los grandes condroplasmas, absorbiendo los tabiques intercavitarios y destruyendo las células cartilaginosas degeneradas (figs. 218, D y 220, C). Resultado de esta labor demoledora es la construcción de vastos espacios longitudinales más ó menos paralelos, cuyos contornos festoneados representan todavía los restos de los grandes condroplasmas. En algún caso subsiste todavía dentro del espacio medular una red complicada, residuo verosímilmente del condroblasto necrosado (fig. 219, B).

Aparición de los osteoblastos.—En cada laguna medular adviértese un asa capilar y un conglomerado de diminutos corpúsculos poliédricos, fusiformes ó triangulares, que llenan todo el hueco esculpido en la materia fundamental cartilaginosa. De entre estos corpúsculos (que no son otra cosa, como antes indicamos, que células conjuntivas llegadas del pericondrio), los tangentes á las paredes de la laguna forman un revestimiento más ó menos continuo, adquieren figura estrellada y se aplican íntimamente á las tiras cartilaginosas limitantes (fig. 218, D). La virtud que tales corpúsculos poseen de segregar la substancia intercelular del hueso les ha valido el nombre de *osteoblastos*. En cuanto á los elementos conectivos no marginales, yacentes por debajo de la anterior y desprovistos todavía de aptitud secretora, toman el nombre de *osteoblastos embrionarios*. Su misión consiste en generar por división nuevos elementos, transformables en *osteoblastos maduros*, en cuanto los primeros se transforman en células óseas.

El osteoblasto en sazón posee forma estrellada. De sus contornos emanan largos y finos apéndices: unos, exteriores, radiados, regulares, dirigidos hacia las paredes del espacio medular; otros, menos numerosos, son interiores, irregulares, anastomosándose, según demostró Spuler y han confirmado modernamente Dubreuil (1912) y Deineka (1914) con los apéndices de los osteoblastos embrionarios ó indiferenciados situados más profundamente.

Como todas las células jóvenes en fase de actividad secretoria, encierra el soma del osteoblasto gran riqueza de granulaciones de diversa especie (Askanazy, Sarcerdotti y Fratini, 1903). Renaut, que las

ha estudiado bien (1909), las designa *gránulos de secreción*. Recientes análisis de Dubreuil (1912), efectuados con ayuda del método de Regaud, y los de Deineka, realizados por el de Golgi (1914), han revelado que la mayoría, si no todas las citadas granulaciones, representan las mitocondrias del osteoblasto. Nuestras observaciones, recaídas en el cartílago en vías de osificación del conejo recién nacido, confirman plenamente este dictamen (método del urano-formol), gráficamente reproducido en la figura 221, tomada del reciente trabajo de Deineka. También hemos corroborado un detalle interesante consignado por Renaut, Dubreuil y Deineka, á saber: que las mito-

Fig. 221. — Osteoblastos rellenos de mitocondrias tomados de la porción ósea periostal de un feto de cerdo de 8 centímetros de longitud.—*a*, *b*, expansiones del osteoblasto; *n*, núcleo; *s*, región libre de mitocondrias donde se aloja el centrosoma y la esfera atractiva (método de Golgi). Figura de Deineka.

condrias, acumuladas en el lado del protoplasma orientado hacia las masas cartilaginosas, reservan no lejos del núcleo un espacio claro destinado á alojar el centrosoma y esfera atractiva *(s)*. De acuerdo con Deineka, hemos notado asimismo que la dotación mitocondrial disminuye sucesivamente á medida que avanza la obra secretora de la célula, como si de las citadas unidades intraprotoplásmicas saliera algún material aprovechable para la producción de la osteína.

En cuanto al aparato de Golgi, preséntase granuloso, relativamente pequeño (fig. 220, *d)* y ocupa la región misma del centrosoma. Acerca de si este sistema de gránulos puede ó no identificarse con una parte del aparato mitocondrial, es difícil pronunciarse. Nos sentimos, empero, inclinados á estimar como cosas diferentes ambas formaciones granulosas, no obstante impregnarse por los métodos argénticos. En pro de tal opinión militan, sobre todo, estas tres razones:

1.ª Cuando el aparato reticular de Golgi aparece bien teñido, dejan de presentarse granulaciones de apariencia mitocondrial en la porción periférica del soma (fig. 220). 2.ª Cada aparato ocupa región diversa del protoplasma, según enseña la comparación de las preparaciones donde se obtienen bien las mitocondrias con las que revelan el sistema reticular de Golgi. El cotejo de la figura 221 de Deineka con la figura 220, tomada por nosotros de osteoblastos embrionarios, permite apreciar claramente dicho contraste topográfico. 3.ª De ordinario, cada sistema de granos tíñese por diversa fórmula de nitratación argéntica: el de Golgi por el nitrato de plata reducido (fijación en formol, luego alcohol, etc.); las mitocondrias por el de Golgi y el urano-formol.

El trabajo constructor de los osteoblastos comprende dos períodos de desigual actividad. Durante el primero, la cara exterior de estas células segrega un material hialino, que no tarda en atraer las sales calcáreas de los plasmas inter-orgánicos; durante la segunda, la secreción celular amaina, y el corpúsculo queda empotrado en la materia fundamental, merced á la actividad secretora despertada en una nueva serie de osteoblastos que han surgido por diferenciación del seno de los corpúsculos embrionarios del espacio medular. Envuelta esta nueva hilera por el material organico-calcáreo, aparece otra serie de osteoblastos activos, y así sucesivamente, hasta que el espacio cavernoso agota casi sus células embrionarias. Como cada célula englobada posee forma estelar y sus apéndices se anastomosan en red, la substancia fundamental reserva también unos finos conductos para alojar estas expansiones. Tal es el origen de los conductos calcóforos.

Según Dubreuil, el número de expansiones y por tanto de conductos calcóforos, no sufre modificación durante el período secretor del osteoblasto; Deineka (1914), en cambio, asegura que en un principio los apéndices son escasos, diferenciándose otros nuevos á medida que avanza el depósito de osteína elaborado.

Hace algunos años, Renaut (1898) y Schaffer han reproducido, sobre el origen de los osteoblastos, una antigua opinión de Wolff (1875), á la que se adhiere también resueltamente Kazander (1900). En sentir de estos sabios, los osteoblastos representarían leucocitos de la sangre, los cuales, llegados por los capilares al espesor del cartílago en vías de osificación, emigrarían á través del endotelio vascular, transformándose por sucesivas transiciones en

osteoblastos de Gegenbauer. Parecido origen reconocen, según Renaut y Kazander, los elementos de Neuman de la médula ósea, así como los osteoclastos. En cuanto á los condroblastos de las zonas cartilaginosas en vías de osificación, contribuirían muy secundariamente á la construcción del tejido embrionario de los espacios medulares. Pero esta doctrina no está probada todavía, y los hechos en que se apoya (formación de las lagunas medulares coincidiendo con la llegada de capilares sanguíneos, notable proporción de leucocitos dentro de éstos, existencia de transiciones entre las células blancas de la sangre y los osteoblastos, etc.), son susceptibles de otras inter-

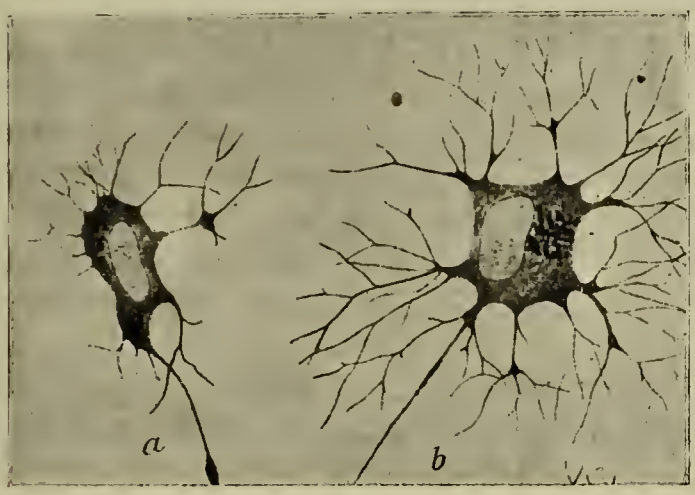

Fig. 222. — Células del hueso periostal de un feto de cerdo de 8 centímetros. *a* y *b*, células óseas jóvenes provistas de largas expansiones. En un lado aparece el aparato de Golgi (según Deineka).

pretaciones. Recientemente, Renaut y Dubreuil (1909) modifican un poco este dictamen, admitiendo que los linfocitos pasarían á ser primeramente células conectivas periósticas, y después, por emigración y sucesivas metamorfosis, legítimos osteoblastos de las lagunas medulares.

Tocante á la textura de la materia fundamental primordial que atrae las sales calcáreas, se han emitido recientemente opiniones contradictorias. En opinión de Disse (1908), el osteoblasto segrega una materia homogénea, dentro de la cual se diferencian fibrillas colágenas; mientras que Korff (1914) supone textura fibrilar *ab initio* de la referida materia sin pasar por el estado homogéneo. Afirma, además, que las fibrillas se continuarían con las del tejido conectivo de la substancia medular.

Zona del hueso embrionario. — En los parajes donde la osificación está más avanzada, la trama ósea no presenta exactamen-

te la estructura adulta: falta la estratificación de la materia fundamental, y los conductos de Havers, todavía anchos y anfractuosos, se comunican ampliamente entre sí y contienen una gran cantidad de médula embrionaria. Entre las formaciones óseas que rodean cada conducto vascular, subsisten todavía las *tiras cartilaginosas directrices,* es decir, aquellos trayectos de materia fundamental cartilaginosa que separaban en la fase antecedente los grandes espacios lacunarios.

Osteogénesis periostal. — Mientras en el seno del cartílago ocurren los fenómenos que acabamos de exponer, la superficie del mismo es asiento de otra formación debida á la actividad osteogénica del periostio. Posee esta membrana dos zonas: *superficial ó fibrosa*, pobre en células y capilares, pero rica en hacecillos conjuntivos; *profunda ú osteogénica,* escasa en haces, pero copiosa en corpúsculos embrionarios y capilares. Las células más hondas adquieren forma poliédrica y se adhieren al cartílago, dando origen á una capa casi continua de *osteoblastos periósticos* (fig. 223, B). Estos osteoblastos emiten hacia el cartílago finas expansiones, y no tardan en segregar una materia fundamental afine de las sales, y en la que, según ocurre en la formación endocondral, quedarán sucesivamente emparedados. Edifícanse de este modo diversos estratos de materia ósea, en cuyo seno se observan espacios cavernosos comunicantes con el periostio, y en donde se alojan capilares y una capa de osteoblastos activos (fig. 223, C).

El hueso periostal júntase al endocondral, conservando sus caracteres embrionarios durante algún tiempo, hasta que se inicia el proceso de absorción.

Por igual mecanismo se produce la osificación en el seno de membranas fibrosas, tales como las que originariamente constituyen los huesos de la bóveda craneal. Estas membranas, que son verdaderos periostios independientes, se vascularizan en el paraje donde se iniciará la osificación; la cara interna de la capa fibrosa se puebla de osteoblastos, que no tardan en producir el material calcáreo en donde quedarán englobados. Como el depósito ocurre en un tejido fibroso, los haces conectivos quedan envueltos con las células en la misma substancia intersticial, lo

que explica la abundancia de fibras de Sharpey en la trama de los huesos anchos.

Absorción y construcción definitiva del hueso. — El hueso embrionario es una formación transitoria destinada á desaparecer por absorción, para ceder su lugar á una construcción más regular de la trama ósea.

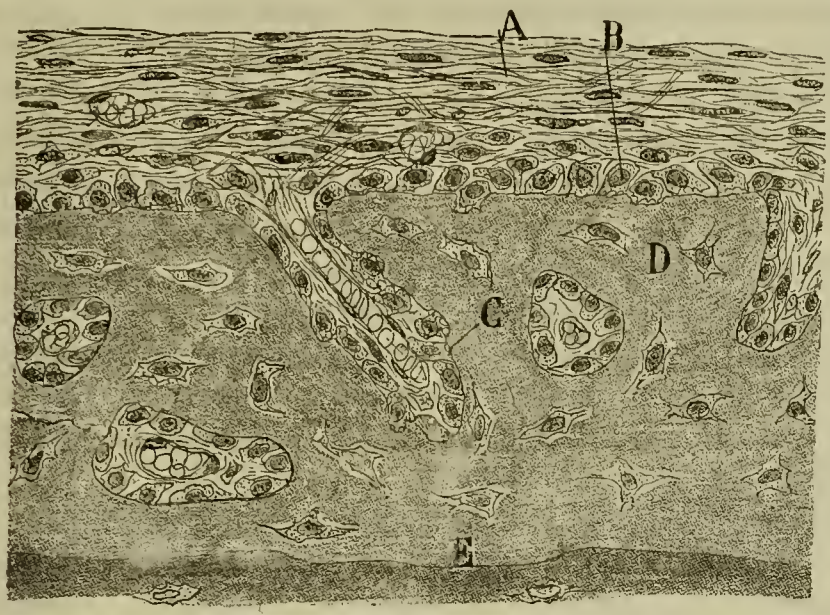

Fig. 223. — Periostio y hueso periostal en vías de formación en un metacarpiano de feto humano. — A, zona fibrosa del periostio; B, capa germinal ó de osteoblastos; D, osteoblastos englobados en la materia fundamental.

Fijémonos en lo que ocurre en los huesos largos, donde el proceso osteogénico se ha estudiado mejor. Estos órganos poseen dos formaciones óseas: una central, nacida en el cartílago de la diáfasis y extendida hasta las extremidades; y otra periférica desarrollada debajo del periostio, y prolongada solamente hasta el contorno del cartílago articular. Ambas construcciones ofrecen los caracteres del hueso embrionario, á saber: ausencia de estratificación, células óseas grandes y estrelladas, conductos de Havers anchos, cavernosos y rellenos de médula y osteoblastos. Falta el conducto medular. En las extremidades del hueso subsiste todavía una gran parte del cartílago fetal.

En tal situación, la absorción comienza. Por diferenciación de

los osteoblastos de los espacios medulares de la formación endocondral, se producen unas células grandes, granulosas, multinucleadas, llamadas *osteoclastos* ó corpúsculos de Kölliker, las cuales se apoyan sobre las trabéculas óseas, desgastándolas y corroyéndolas en virtud de una acción digestiva que puede compararse á la realizada por el zoospermo al disolver la membrana del óvulo. Las fosetas labradas por dichas células en la materia ósea, se llaman lagunas de Howship (fig. 218, F).

Fórmase de esta suerte el conducto medular de la diáfisis, el cual va ensanchándose progresivamente, merced al trabajo demoledor de los osteoclastos, hasta destruir toda la formación endocondral y una buena parte de la periostal. Semejante destrucción queda compensada por el depósito de nuevas capas en la zona osteogénica del periostio, así como en torno de las expansiones que esta membrana dirige al espesor del hueso recién formado. Sólo en las epífisis subsistirá la primitiva edificación endocondral, que se transformará, con el tiempo, en la substancia esponjosa del hueso adulto.

No paran aquí las transformaciones óseas. Aun después del nacimiento prosigue la absorción, sufriendo nuevos retoques la construcción periostal, para dar origen al hueso definitivo. Por este tiempo ocurre la estratificación de la materia fundamental, el angostamiento de los conductos de Havers, cuyos osteoblastos desaparecen en gran parte, y la edificación de las láminas fundamentales internas, debidas al trabajo de la capa de osteoblastos que envuelve la médula ósea. Testimonio de éstos demolimientos y reconstrucciones, son esos sistemas de Havers á medio absorber que nos presentan los cortes de hueso adulto. La línea más ó menos desigual á cuyo nivel las laminillas óseas aparecen interrumpidas por el trabajo demoledor, llámanse *línea de absorción, y línea de aposición* el contorno del sistema de Havers más moderno que reemplaza al parcialmente destruído.

En suma; el modelamiento definitivo del hueso es debido á la colaboración armónica de dos clases de células: los *osteoblastos,* que segregan el material organico-calcáreo, y los *osteoclastos,* que lo destruyen ó retocan hasta reducirlo á la forma defi-

nitiva. Una vez acabada la evolución, el osteoblasto, empotrado en la materia fundamental, pierde la cualidad secretora, así como la virtud proliferante, y no tarda en caer en la atrofia y aniquilamiento. Mucho antes perdió ya, según ha mostrado Deineka, sus mitocondrias, exhibiendo solamente en un lado del soma un minúsculo y atrófico aparato reticular de Golgi. La vitalidad del hueso quedará en adelante encomendada á las células periósticas y medulares, las cuales podrán, en caso de fractura ó de destrucción de aquél, reparar el tejido, ajustándose al mecanismo de la osteogénesis periostal embrionaria. La célula ósea adulta debe estimarse como un elemento degenerado incapaz de proliferación.

Preparación del hueso. — *Osteoplasmas y conductos calcóforos.* — Uno de los métodos mejores y más expeditos consiste en incluir en el bálsamo del Canadá seco, es decir, privado de su esencia, cortes convenientemente afilados y pulidos de huesos macerados. Para los detalles del manejo del bálsamo y de la obtención de los cortes de huesos, véase la *Técnica* en la pág. 130. Este procedimiento muestra perfectamente los conductitos y lagunas, que aparecen negras por estar llenas de aire, pero no presentan con igual claridad las laminillas de Havers. Para poner de manifiesto ambas cosas, debe escogerse el procedimiento de teñido con las anilinas (pág. 131).

Demostración de la textura laminar. — Puede conseguirse fácilmente por el siguiente método, debido á Ebner: Comiénzase por diluir en un volumen de agua destilada una solución saturada de sal común, en cuyo líquido se abandonarán los trozos de hueso destinados á la decalcificación. Para disolver las sales calcáreas, se añadirán al líquido, sucesivamente y por varios días, gotas de ácido clorhídrico hasta que los huesos se tornen flexibles, constituyéndose lo que se ha llamado el *cartílago óseo*. Entonces se lavan prolijamente en agua corriente y se sumergen en una solución salina igual á la anterior, pero sin ácido, hasta que la pieza haya perdido su acidez, resultado que se obtendrá más seguramente alcalinizando ligeramente con amoníaco el licor salino. Los cortes, que deben ser muy delgados y tangenciales al hueso, se examinarán en agua destilada ó en la misma solución salina. La disociación de las fibrillas se logrará dislacerando los cortes con las agujas ó rascando las secciones longitudinales óseas con el filo de un escalpelo.

Este procedimiento puede simplificarse del modo siguiente, sin que los resultados nos parezcan inferiores: Un corte conveniente desgastado del hueso óseo se deposita en un vidrio de reloj que contenga

agua con algunas gotas de ácido clorhídrico. A los pocos minutos el corte, ya decalcificado, se lava muchas veces con agua destilada y se deja macerar por algunas horas en la solución salina al 10 por 100. La observación del preparado, así como la conservación del mismo, se efectuarán en este mismo licor.

Fibras de Sharpey. — Uno de los mejores métodos que pueden utilizarse para demostrarlas, es el que acabamos de describir. Es preciso que los cortes sean perpendiculares á la diáfisis de un hueso largo y que muestren de preferencia las láminas fundamentales externas. Serán útiles también los cortes perpendiculares á los huesos del cráneo, que, por ser de origen exclusivamente fibroso, contienen muchas fibras perforantes.

Para obtener las fibras de Sharpey aisladas ó semiseparadas de las láminas que atraviesan, no hay más que desgarrar con las agujas un corte decalcificado. No es raro encontrar láminas desprendidas que llevan clavadas todavía algunas fibras perforantes. La continuidad de estas fibras con el periostio se demostrará fácilmente examinando huesos frescos decalcificados, preferentemente los del cráneo en vías de desarrollo (cabeza del perro ó gato de pocos días).

Kölliker propone el siguiente medio de coloración de las fibras de Sharpey: Cortes de cartílago óseo, obtenidos por cualquier procedimiento de decalcificación, son tratados durante algunos minutos por el ácido acético concentrado; sumérgense luego por medio minuto en una solución de carmín de índigo en ácido oxálico, y, por último, se lavan en agua destilada y conservan en glicerina. Las fibras de Sharpey aparecen de rosa pálido, y de azul claro la materia fundamental ósea.

Hay otro medio de demostración de las fibras de Sharpey que proporciona preparaciones muy demostrativas. Es sabido que estas fibras no están calcificadas, ó si lo están, lo son imperfectamente. Por consiguiente, si se destruyen las partes orgánicas del hueso, bien por la ebullición prolongada, bien por la calcinación, todo resto de fibras habrá desaparecido y el lugar que ellas ocuparon aparecerá lleno de aire y con vigoroso contraste.

La calcinación (á la que nosotros debemos excelentes preparaciones) se practica depositando una lámina bien seca y afilada de hueso sobre una cápsula de platino calentada al rojo por la llama de gas ó de alcohol. El corte óseo se volverá negro en seguida, pero á los pocos minutos emblanquecerá; entonces es cuando debe trasladarse con cuidado (es sumamente frágil) á un porta-objetos, donde se montará en preparación persistente con ayuda del bálsamo seco, recién derretido por el calor. Las fibras de Sharpey se mostrarán negras, así como las lagunas y conductitos sobre fondo incoloro.

Células óseas. — Las células óseas pueden examinarse en estado

fresco, para lo cual se tomarán delgados pedazos de concha nasal de rata ó de conejillo de Indias, que se examinarán en el licor salino indiferente previo desprendimiento de la mucosa y periostio de que están revestidos. Asimismo cabrá utilizar pequeños cortes practicados paralelamente á los huesos frescos con una navaja de filo duro. El estudio del núcleo se facilitará mucho, sometiendo estos cortes á la acción de una solución acetificada de verde de metilo. El carmín y la hematoxilina no obran bien sino después de fijadas las células por el alcohol.

Las células óseas podrán estudiarse también en los cortes de hueso fresco decalcificado por el ácido pícrico, crómico, etc. La coloración se efectuará en la hematoxilina, la tionina, la safranina, con sujeción á las reglas formuladas en las páginas 123 y siguientes.

Según Van der Stricht (1904), nuestro método del nitrato de plata reducido colorea muy bien las células óseas del huevo fresco, así como los conductitos calcóforos. Deineka lo ha empleado también con éxito para la coloración de las expansiones de los neuroblastos jóvenes (1914). Aconseja la fijación en formol, lavado por varias horas, nitrato de plata durante tres ó cuatro días y reducción en el piroformol.

Cuando, tras la fijación en formol, se induran las piezas en alcohol, se llevan tres días al nitrato de plata y se reducen en el baño de hidroquinona-formol, adicionado de un poco de sulfito de sosa (medio gramo por 100 de líquido), obtiénese en los cartílagos en vías de osificación, según ha observado Fañanás (1914), una excelente impregnación del aparato de Golgi de los osteoblastos y cartílago seriado. En cambio, en el cartílago normal este método no impregna la red de Golgi; á este fin conviene recurrir, ó al proceder de Golgi al ácido arsenioso-formol, ó á nuestra fórmula del formol-urano.

Desarrollo del hueso. — El examen debe recaer sobre huesos decalcificados y convenientemente indurados.

He aquí el procedimiento de decalcificación más recomendable:

En una solución saturada de ácido pícrico se dejarán macerar por algunos días trozos de hueso en vías de desarrollo. Se preferirán á este fin los metacarpianos y los metatarsianos de feto humano de cinco meses en adelante, los huesos del cráneo, de la mano y pie del conejo, gato, etc., recién nacidos ó de pocas semanas. Se tendrá cuidado de observar el líquido diariamente y de mantenerlo á saturación agregándole un sobrante de cristales de ácido pícrico. Cuando la decalcificación sea completa, se descartará el exceso de ácido pícrico, mediante la maceración de las piezas en el agua (por veinticuatro horas); se fijarán éstas en alcohol absoluto, que se mudará durante dos ó tres días hasta completa deshidratación; luego se tratarán por cuarenta y ocho horas en una mezcla de éter y alcohol, y por último,

se impregnarán por varios días en celoidina siruposa. La pieza se pegará con la misma celoidina á la superficie de un corcho, y se someterá todo junto á la induración en el alcohol flojo. Los cortes microtómicos, que deben ser longitudinales en los huesos largos, se recogerán en el agua, se teñirán por las anilinas (procedimiento de Gieson, coloración triple de Cajal, teñido con safranina, tionina, etcétera), se decolorarán en el alcohol absoluto y se lubrificarán en esencia de bergamota, para montarlos en el bálsamo disuelto en cloroformo ó xilol.

Para demostrar las mitocondrias de los osteoblastos, emplea Deineka el método de Golgi (fórmula argéntica al ácido arsenioso impregnadora del aparato reticular). Véase más adelante este método en la técnica del sistema nervioso. Según dicho sabio, la impregnación de las citadas granulaciones y aparato de Golgi exige una fijación brevísima (una á dos horas) en la mezcla formol-alcohol y ácido arsenioso, en vez de las doce que recomienda Golgi.

CAPÍTULO XVII

TEJIDO DENTARIO

Definición. — El tejido dentario es una trama dura, compuesta de un material orgánico-calcáreo transparente, cruzado por multitud de conductitos que encierran plasma y los apéndices de ciertos corpúsculos alargados de la pulpa.

Esta definición se refiere al marfil, que representa al tejido principal del diente. El esmalte no es un verdadero tejido, porque no contiene células; representa en realidad un producto secretorio del epitelio del órgano adamantino de la época embrionaria. Tocante al cemento, debe considerarse como una formación ósea engendrada por el periostio alvéolo-dentario. De todos modos, los caracteres micrográficos de estas tres formaciones son muy distintos, por lo que haremos de cada una de ellas una descripción separada.

Marfil. — **Distribución y caracteres macroscópicos.** — Reside el marfil en los dientes de la mayor parte de los vertebrados, constituyendo la masa principal de dichos órganos. A la simple vista, muestran los dientes tres porciones: una prolongación profunda de color amarillento y de forma cónica, llamada *raíz;* un ensanchamiento superior, de color blanco azulado y aspecto vítreo, llamado *corona*, y una ligera estrangulación intermediaria, correspondiente á la inserción de la encía, designada *cuello.* El interior del diente es hueco y contiene una masa blanda formada por tejido conjuntivo-vascular, que se conoce con el nombre de *pulpa.*

Caracteres micrográficos del marfil. — Cuando se examina al microscopio un corte transversal de un diente, aparecen dos cosas: ciertos tubitos paralelos, y la materia fundamental transparente.

Los tubos del marfil representan los calcóforos del hueso, con

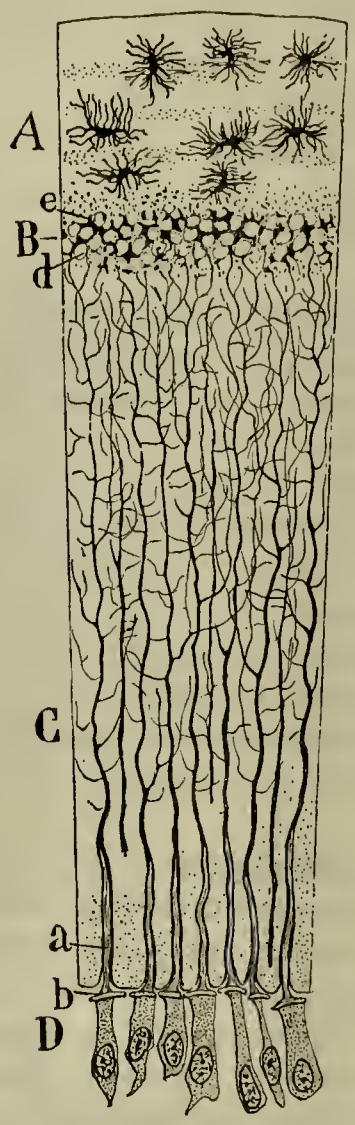

Fig. 224. — Trozo de un corte transversal de la raíz de un diente. En esta figura se han reunido las células periféricas de la pulpa, el marfil y el cemento. — A, cemento; B, zona de los globos de la dentina; C, marfil mostrando sus tubos á lo largo; D, odontoblastos; *a*, expansión periférica de los odontoblastos; *b*, chapa exterior de éstos; *d*, globos de dentina; *e*, espacios interglobulares ó red lacunaria.

la diferencia de que, en vez de proceder de pequeñas cavidades ó lagunas óseas, dimanan todos del hueco dentario central, asiento de la pulpa. Al nivel de su arranque, en el interior del diente, dichos tubitos son relativamente espesos, pues miden un diámetro de 2 á 3 μ; pero en su camino divergente hacia la periferia van perdiendo calibre, hasta reducirse cerca del cemento á menos de 0'5 μ. Los conductos del marfil marchan irradiados y más ó menos paralelos, suministrando en su camino infinidad de ramificaciones finas que, anastomosándose entre sí, constituyen en la substancia fundamental una red complicada. A veces, dichos tubos marchan ondulados, y como las revueltas de muchos de ellos yacen en el mismo plano, el aspecto de las mismas á pequeños aumentos es de bandas ó fajas concéntricas á la cavidad central (líneas de Schreger). Por debajo del cemento, en una faja salpicada de cavidades (fig. 224, *e*), es donde tienen su remate los tubitos de marfil de la raíz del diente; los de la corona acaban debajo del esmalte á favor de penachos de ramificaciones (figura 225, *b*). En el diente seco, los conductos del marfil están llenos de aire, destacándose vigorosamente por tal motivo del fondo general; pero en el diente fresco, dichos tu-

bitos contienen plasma y una prolongación filamentosa transparente de las células de la pulpa (odontoblastos) (fig. 224, *a*) que llena sólo una parte de aquéllos.

La materia fundamental es transparente y homogénea á flojos aumentos; con ayuda de objetivos de inmersión se muestra estratificada, pero las zonas no son, como ha demostrado Ebner, rigurosamente concéntricas á la cavidad central. Estos estratos son comparables á las laminillas óseas, constando de fascículos de 2 μ de espesor, cuya dirección general es la del mismo diente (Ebner). Semejantes hacecillos de hebras entrecrúzanse en ángulo agudo dentro de cada lámina, limitando unos estrechos resquicios para el paso de los tubitos de marfil, que atraviesan casi perpendicularmente los estratos (1). Por lo demás, las laminillas del marfil no son nunca tan distintas como las del hueso, á causa del poco contraste que, en punto á dirección, ofrecen los hacecillos de una de ellas con relación á los de las inmediatas.

Debajo del cemento, entre éste y el marfil, se advierten varias zonas de ciertos corpúsculos calcáreos, esféricos, macizos, brillantes, que se conocen con el nombre de *globos de dentina* (figura 224, *d*). Entre tales esferas yacen unos huecos cavernosos, triangulares y escotados llamados *red lacunaria del cemento* ó *espacios interglobulares*. En estas oquedades irregulares, llenas de plasma en el diente fresco, desaguan las últimas ramificaciones de los tubitos de marfil (fig. 224, *e*). No es raro ver por fuera de esta zona cavernosa otra formación lacunaria menos desenvuelta (red lacunaria secundaria).

Cemento. — El cemento es una especie de barniz óseo que recubre la raíz dentaria y cuyo espesor disminuye conforme ésta se acerca á la corona. Visto al microscopio en cortes transversales, exhibe la materia fundamental y los osteoplasmas (fig. 224, A).

La substancia fundamental es diáfana, ligeramente amarillenta, y se dispone en capas concéntricas al marfil. Estas capas se

(1) La opinión de que las láminas del marfil están formadas de hacecillos longitudinales, fué ya emitida por nosotros en 1887, en el 6.° cuaderno de nuestra obra: *Manual de Histología normal y técnica*. Ebner, independientemente de nosotros, llegó á este mismo resultado en su Memoria de 1890.

distinguen en obscuras y claras, y afectan la misma composición que las del hueso.

Los osteoplasmas yacen solamente en la porción inferior del cemento, donde las estratificaciones de materia fundamental son más numerosas. Como las del hueso, dichas lagunas afectan una forma estrellada, y de sus contornos brotan finos conductitos calcóforos que se distinguen por lo tortuoso de su curso y por terminar casi siempre en fondo de saco, sin anastomosarse con los procedentes de vecinos osteoplasmas. Sin embargo, los conductitos emanados de la hilera más baja de lagunillas, suelen desaguar en los espacios interglobulares. En estado fresco, los osteoplasmas encierran corpúsculos de Virchow.

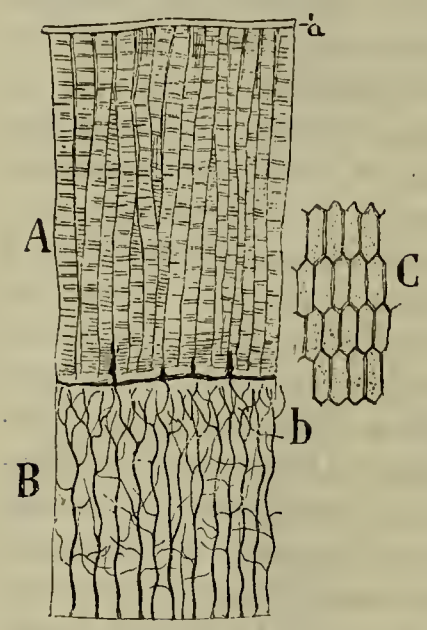

Fig. 225. — Esmalte y terminación del marfil. — A, capa del esmalte que muestra los prismas seccionados á lo largo; B, parte periférica del marfil; C, algunos prismas cortados de través; *a*, cutícula del esmalte; *b*, penachos periféricos de los tubos del marfil.

Esmalte. — Es una masa vítrea tan dura que raya en acero, constituída por fibras prismáticas exentas de estructura y segregadas en la época fetal por un órgano transitorio llamado *bolsa ó germen adamantino.*

El esmalte posee color blanco azulado, es frágil y de fractura fibrosa, y representa una costra de varios milímetros de espesor que se adelgaza y termina al nivel del cuello dentario.

Un corte perpendicular á la superficie del esmalte, presenta cortados á lo largo los prismas adamantinos, dispuestos á modo de fibras largas (fig. 225, A), paralelas, implantadas por su cabo profundo en el marfil, y terminadas libremente en la superficie de la corona. Entre los prismas, adviértese un cemento de unión calcificado, que posee, como ha hecho notar Ebner, mayor resistencia que aquéllos á la acción del ácido hidroclórico diluído, es decir, que cede difícilmente las sales en presencia de los ácidos.

Este mismo autor ha probado que la dirección de los prismas dista mucho de ser paralela; en realidad, dispónense en eses, cuya dirección es cruzada con relación á la de los grupos ó planos de fibras inmediatas. Los cortes transversales presentan los prismas como campos exagonales que recuerdan los epitelios. En la superficie del esmalte existe una zona delgada, hialina, sumamente refractaria á los ácidos, que se designa *cutícula del esmalte* (figura 225, *a*).

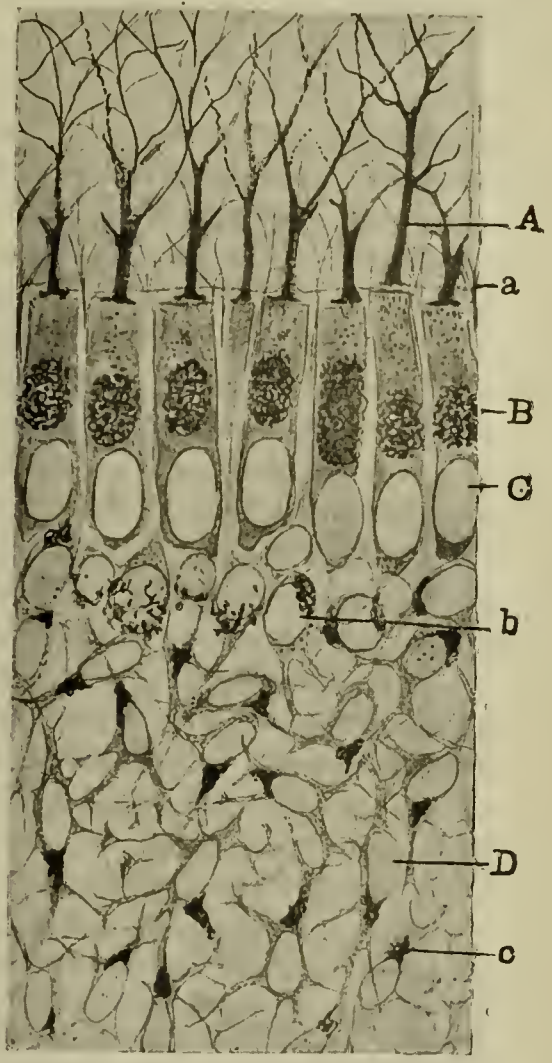

Fig. 226. — Corte de la papila dentaria del perro de dos meses (diente en vías de formación). — A, fibras de Tomes penetrantes en el marfil; B, aparato de Golgi de los odontoblastos; C, núcleo de éstos; D, corpúsculos conectivos de la pulpa; *a*, haces colágenos penetrantes en el marfil; *b*, odontoblastos germinales; *c*, aparato de Golgi de un elemento conectivo. (Tomada de J. R. Fañanás).

Pulpa dentaria. — En la cavidad central del diente reside un tejido conectivo rico en capilares sanguíneos, que puede considerarse, con ciertas limitaciones, como la representación de la médula del hueso. Consta la pulpa de dos zonas: central y periférica.

La central forma casi toda la pulpa, y se compone de una trama de hacecillos conectivos en cuyas mallas se albergan multitud de corpúsculos fijos, fusiformes ó estrellados. En los animales jóvenes, las expansiones de tales corpúsculos se anastomosan, generando una red complicada. Cerca del núcleo yace un apa-

rato de Golgi apretado (fig. 226, *o)* y pequeño. Los vasos sanguíneos constituyen una red tupida, terminada no lejos del marfil, mediante asas periféricas.

La región periférica de la pulpa está compuesta de una hilera de células gigantes, alargadas (fig. 224, D), que se conocen con el nombre de *odontoblastos*. El cuerpo de estos corpúsculos es cilíndrico ó prismático y alcanza longitud desigual: por abajo acaba por un extremo redondeado ó mediante alguna expansión ramificada en la zona subsiguiente; por fuera aparece guarnecido por una chapa brillante en contacto con el marfil; finalmente, en su porción profunda contiene un núcleo ovoideo y bastante robusto. Pero el rasgo más notable de estas células, lo que ha servido para asimilarlas á los corpúsculos óseos, es el apéndice en forma de hierro de lanza que, arrancando de la chapa exterior, se insinúa en los conductos del marfil para terminar libremente en el interior de éstos (fig. 224, *a*). Considérase esta expansión, que es sumamente pálida y algo estriada á lo largo, como una prolongación del protoplasma (fibra de Tomes).

Con esta larga expansión penetran en los conductos del marfil, según ha probado recientemente Fritsch (1914), haciendo uso de los métodos neurofibrillares, finos fascículos colágenos, continuados con la red intersticial de la pulpa y una larga y recta fibra nerviosa terminal.

Poseen los odontoblastos un aparato de Golgi muy desarrollado y fácilmente revelable con el método del formol-urano en los dientes en evolución de los animales jóvenes (fig. 226, B). De las observaciones de Fañanás (1914), efectuadas bajo nuestra dirección, resulta que dicho aparato reticular afecta forma ovoidea ú oblonga, se compone de redes y filamentos apretados y reside entre el núcleo y el cabo superficial de la célula. Por debajo de la hilera de los odontoblastos yacen corpúsculos basales (*b*), alargados é irregulares, cuyo aparato reticular interno muéstrase más pequeño y á menudo fragmentado.

Caracteres químicos del marfil.—Como el hueso, encierra el marfil osteína y sales. La proporción de éstas aparece en el siguiente cuadro, debido á Bibra:

Substancia fundamental colágena	27'65
Grasa	0'40
Fosfato de cal y fluoruro cálcico	66'72
Carbonato de cal	3'36
Fosfato de magnesia	1'08
Diversas sales	1'83

Se ve por el anterior cuadro que el marfil es más pobre que el hueso en materias orgánicas.

Odontogenesis.—Desde el segundo mes de la vida intra-uterina están constituídos los gérmenes dentarios, que son dos: uno epitelial, llamado germen del esmalte; otro conjuntivo, designado germen del marfil.

Germen del esmalte. — El epitelio bucal situado por encima de la mandíbula se espesa, y de su cara profunda parte una expansión glanduliforme que penetra en el espesor del maxilar, donde no tarda en abombarse, adquiriendo una figura comparable con el fondo de una botella (fig. 227, B). El pedículo que junta la expansión epitelial con el tegumento mucoso *(gubernaculum dentis)* se estira y adelgaza, cayendo en atrofia, mientras que los corpúsculos de la bolsa epitelial experimentan importantes diferenciaciones. Dicha bolsa epitelial consta ahora de tres zonas bien distintas: interna, media y externa.

La *zona externa* (fig. 227, *a*) consta de una hilera de corpúsculos aplanados, irregulares, que no tardan en atrofiarse, sin tomar participación ninguna en la formación adamantina.

La *zona media* es espesa y más ancha en el centro que en los contornos de la invaginación epitelial *(b)*; sus elementos, dispuestos en capas irregulares, se retraen y degeneran, dejando entre sus caras anchos espacios llenos de plasma. En ciertos puntos, las células aparecen unidas por puentes comunicantes, restos de los filamentos intercelulares que enlazan entre sí los corpúsculos del cuerpo de Malpigio de la mucosa bucal. Tampoco esta zona ó capa epitelial intermediaria posee virtud odontogenética.

La *zona interna* es la más importante, pues á su cargo corre la secreción de los prismas adamantinos; hállase constituída de una hilera de corpúsculos prismáticos gruesos, provistos de un núcleo residente cerca del cabo periférico de los mismos. La

cará profunda de estas células aparece revestida de una chapa brillante (B), debajo de la cual, y en el espacio que media entre ella y la superficie del órgano del marfil, se depositarán los prismas del esmalte. Estos se presentan primeramente en lo alto de la corona, y se extienden ulteriormente por los lados, para terminar en delgada capa al nivel del cuello dentario. Exami-

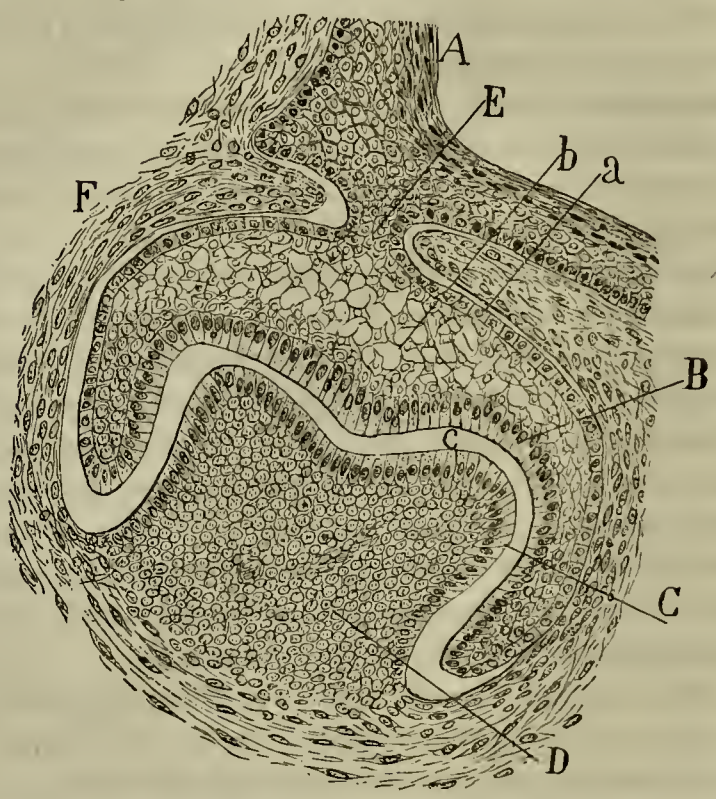

Fig. 227. — Corte de un germen dentario de un feto de ratón. — A, epitelio bucal; B, bolsa epitelial ú órgano del esmalte; C, capa de odontoblastos ú órgano productor del marfil; D, papila dentaria; E, *gubernaculum dentis* ó puente de unión entre el epitelio bucal y el órgano del esmalte; *a*, capa externa de este órgano; *b*, zona media ó degenerativa; *c*, cavidad donde será segregado el marfil y esmalte.

nada atentamente la capa adamantina recién construída, se ve que consta, como el esmalte adulto, de prismas exagonales, cuyos extremos periféricos encajan exactamente en los cabos centrales del epitelio formador; pero sin continuidad de substancia, pues el esmalte no representa otra cosa que un producto secretorio de la zona interna del germen adamantino. Esta secreción se verifica por estratos sucesivos que se calcifican gradual-

mente, debiéndose el modelamiento en prismas del producto á que la actividad formadora reside solamente en la cara profunda exagonal del epitelio, y no en el cemento de unión. Ulteriormente, el depósito calcáreo invadirá también los intersticios que separan cada prisma, constituyendo un todo coherente.

Germen del marfil. — Durante el desarollo del germen del esmalte, el tejido conjuntivo embrionario situado por debajo de éste, crece en forma de papila, empujando el fondo de la bolsa epitelial y obligándola á invaginarse como el fondo de una botella. La papila así formada (D) consta de corpúsculos pequeños, estrellados, separados entre sí por escasa materia intersticial transparente, así como por algunos capilares sanguíneos. Las capas centrales mantienen durante mucho tiempo su composición embrionaria, pero la hilera celular más periférica no tarda en experimentar cambios interesantes.

En efecto, sus elementos (fig. 227, C) se alargan y engruesan notablemente, presentando un cabo interno ó convergente, más ó menos redondeado, que contiene el núcleo, y un cabo externo ó periférico terminado debajo del epitelio adamantino en un espacio plásmico donde concurrirán el esmalte y el marfil. Estos corpúsculos, que representan una diferenciación conectiva muy importante, se designan con el nombre de *odontoblastos;* á su actividad secretoria específica se debe la producción del marfil. En la figura 226, B mostramos los odontoblastos de los gérmenes dentarios del perro joven. Repárese la robusted del aparato de Golgi, peculiar de todo corpúsculo secretor, y la recia expansión ramificada en el seno de una materia amorfa, que no es otra cosa que dentina apenas calcificada (A).

Los odontoblastos, una vez formados, acrecen su tamaño y emiten, según dejamos dicho, una expansión recia, divergente y sumamente pálida (fibra de Tomes), que se prolonga en el espacio situado por debajo del órgano del esmalte. Este apéndice bifúrcase á veces ó emite colaterales anastomóticas con las nacidas en elementos vecinos (fig. 226, A). Al llegar á esta fase, el cabo externo de los odontoblastos inicia su trabajo secretor, sedimentándose por fuera de los mismos, y entre las expansiones citadas, una costra de marfil, al principio blanda y como gelati-

nosa *(membrana preformativa)*, pero que no tardará en endurecerse á favor de depósitos calcáreos. Del mismo modo que ocurre en el hueso, las expansiones de los odontoblastos sirven para el moldeamiento de los conductos del marfil, en los cuales quedarán definitivamente englobadas. Una diferencia importante separa, sin embargo, el odontoblasto del osteoblasto: éste, por consecuencia de la interrupción de su actividad secretoria y de la transformación en células osteoblásticas de corpúsculos inmediatos, queda enteramente empotrado en el material calcáreo, mientras que aquél conserva su poder formador durante toda la época evolutiva, y sólo engloba en la substancia fundamental su prolongación periférica.

El marfil suele aparecer antes que el esmalte, iniciándose también en lo alto de la corona, y corriéndose después hasta la raíz del diente. A medida que aumenta el número de capas del marfil, los odontoblastos retíranse hacia adentro, retrayendo progresivamente su expansión protoplásmica periférica, que, en el momento del brote dentario, no parece ocupar más allá del tercio interno de los conductitos de la dentina.

Según Hansen y Korff (1906), la substancia fundamental primordial aparecida por encima de los odontoblastos no es homogénea, sino fibrilar; según este último autor, dicho material constaría de un plexo de hebras colágenas, donde dominan las dirigidas radialmente. Aprovechando las junturas de los odontoblastos, dicho plexo se comunica y continúa á favor de cordones fibrilares cónicos, con los hacecillos conjuntivos de la pulpa (fig. 228, B). Los estudios recientes de Fritsch (1914) prueban que en el adulto subsisten todavía dichos cordones penetrantes en el marfil. Su presencia en el espesor de la dentina podría explicarse suponiendo que, cuando se inicia el proceso secretor del odontoblasto, tanto éste como su expansión radial hállanse ya costeados por finísimos hacecillos colágenos. En este caso, como en otros, es preciso admitir, en las hebras conectivas, la propiedad de crecer y de multiplicarse á guisa de cuerpo vivaz.

Formación del cemento. — Como consecuencia del excesivo estiramiento longitudinal del órgano productor del marfil, la dentina rebasa por debajo de la superficie profunda del germen adamantino, poniéndose una gran parte de ella en contacto con

el tejido conectivo de los maxilares. A expensas de esta trama conjuntiva vecina, engéndrase una membrana perióstica *(periostio alvéolo-dentario)*, que rodea la raíz del diente y ofrece, como el periostio verdadero, una zona profunda, compuesta de osteoblastos. No hay para qué insistir en el mecanismo de la producción del cemento; baste decir que el proceso es idéntico al de la osificación periostal, puesto que el cemento no es otra cosa que un depósito óseo desprovisto de conductos de Havers.

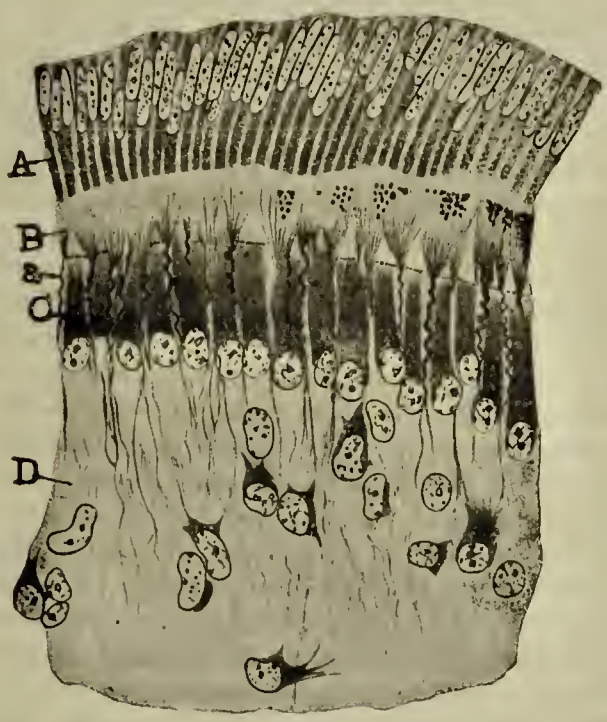

Fig. 228. — Gérmenes del esmalte y marfil, según Korff. — A, epitelio formador del esmalte; B, materia elaborada por los odontoblastos y formada por fibras continuadas con los haces conectivos de la papila dentaria; C, odontoblastos; *a*, haces colágenos radiados; D, trama conectiva de la papila dentaria.

En el momento de la erupción dentaria, la corona se muestra todavía recubierta por las capas epiteliales media y externa del órgano productor del esmalte; y los primeros roces con el alimento desprenderán rápidamente estos restos epiteliales, quedando el esmalte al descubierto.

Por igual mecanismo que los transitorios, se engendran los

dientes definitivos. No obstante, se cree que no vuelve á repetirse el fenómeno de invaginación del epitelio bucal, formándose el nuevo órgano productor del esmalte á expensas de los restos epiteliales, que, en la época de la formación del *gubernaculum dentis*, quedaron englobados en la trama peri-alveolar. El marfil nace por diferenciación *ex-profeso*, del tejido conectivo vecino del órgano adamantino.

Preparación del tejido dentario. — *Osteoplasmas y canalículos.* — El método preferible será la inclusión de un corte de diente en bálsamo del Canadá privado de su aceite esencial. El manual operatorio es igual al descrito en las páginas 130 y 131. Aquí haremos solamente algunas advertencias. En el diente seco suelen practicarse dos clases de cortes: los longitudinales y los transversales. Estos últimos, si recaen en la raíz, pueden ejecutarse con la sierra-pelo de relojero, tratándose en un todo como las secciones de hueso macerado. Pero si se trata de cortes longitudinales ó axiales que comprendan el esmalte, no basta la sierra ordinaria, y hay que apelar, para obtener el corte, bien á una sierra de agua y esmeril, bien al desgaste en totalidad, ejecutado por las dos caras opuestas del diente, sobre una piedra de asperón. La sección grosera lograda de este modo, deberá ser adelgazada después en la piedra pómez y pulida en una piedra fina de afilar. Es de advertir, para el mejor desempeño de esta maniobra, que los dientes secos y macerados tienen á menudo resquebrajaduras que se revelan en el curso del desgaste, inutilizando la preparación. Por esta razón, son recomendables los dientes frescos, porque su mayor elasticidad los hace mucho más resistentes á las violencias del frote. Los cortes, suficientemente afilados, deben, antes de su inclusión en el bálsamo, ser sometido á una maceración prolongada en agua hasta la pérdida completa de sus partes blandas.

El *esmalte* puede seccionarse paralelamente á su plano, lo que es muy útil para discernir la forma de sus prismas. Para ello se hace saltar, á favor de un martillazo, una esquirla de este tejido. El pedazo obtenido, que ordinariamente es un casquete de esmalte, se desgastará y conservará como los preparados ordinarios de diente ó hueso

Un buen medio de preparar el esmalte es la disociación. Se consigue fácilmente tratando dientes jóvenes (durante varios días) por el ácido clorhídrico ó crómico al 2 por 100, reactivos que reducen el esmalte á una costra blanda, descomponible en prismas á la menor tentativa de disociación con las agujas.

Pulpa.—El examen de las partes blandas del diente (pulpa, odontoblastos, etc.), se hará en cortes de piezas decalcificadas por el ácí-

do pícrico ó crómico (véase tejido óseo, pág. 384). La disociación de los odontoblastos se ejecutará fácilmente con las agujas, tomando un poco de la zona periférica de una pulpa dentaria macerada por varios días en bicromato de potasa (3 por 100) ó ácido crómico diluído.

El estudio de la evolución dentaria puede practicarse, á falta de fetos humanos de cinco ó más meses, en las mandíbulas del perro recién nacido. Pequeños trozos de estos huesos se decalcificarán en ácido pícrico á saturación, se deshidratarán en alcohol, se incluirán en celoidina y se reducirán á finos cortes microtómicos, que se teñirán con picrocarminato, safranina, hematoxilina, etc., y conservarán en glicerina ó bálsamo.

El aparato de Golgi de los odontoblastos, se estudiará por el método del formol-urano, más atrás descrito. Para ello se escogerán dientes jóvenes ó gérmenes dentarios reducidos á trozos mediante la sierra. Operada la reducción se extraerá cuidadosamente la pulpa, que se indurará y cortará. Es preciso evitar los decalcificantes, porque impiden la reacción.

CAPÍTULO XVIII

TEJIDO MUSCULAR

Definición. — El tejido muscular es una trama orgánica constituída por la asociación de corpúsculos larguísimos, paralelamente dirigidos y susceptibles de encogerse bajo la influencia del sistema nervioso.

Clasificación. — Desde el punto de vista anatómico y fisiológico, reviste el tejido muscular dos modalidades: *tejido muscular de fibra lisa* ó de contracción lenta y *tejido muscular de fibra estriada* ó de contracción rápida. En general, cabe afirmar que la variedad muscular lisa (así calificada por carecer de aspecto estriado) entra en la construcción de los órganos de la vida vegetativa y funciona con independencia de la voluntad; mientras que la variedad estriada forma parte de los órganos de la vida de relación y obra bajo la influencia del sensorio. Existen, empero, excepciones: los músculos lisos de los invertebrados y los vesicales de los vertebrados obedecen al estímulo de la voluntad, y, al contrario, el corazón y el diafragma, que son músculos estriados, actúan de un modo involuntario. El carácter voluntario ó automático de las contracciones parece depender, no de la textura del músculo, sino del centro nervioso de donde brota la excitación. Así, todo músculo que pueda ser influído por la vía piramidal del cerebro, será voluntario; en tanto que será automático todo aquel cuya actividad se subordine exclusivamente á centros medulares ó simpáticos.

VARIEDAD MUSCULAR LISA

Caracteres macroscópicos y distribución general. — Examinado á simple vista, se presenta el tejido muscular de fibra lisa como una trama blanda, elástica, ligeramente amarillenta ó amarillo-rosácea y de aspecto fasciculado.

Reside esta variedad muscular en casi todos los órganos de la vida vegetativa, á saber: la túnica media de las arterias y venas, la capa muscular del intestino, la de igual nombre de la vejiga urinaria y matriz, los conductos excretores de las glándulas, los músculos *arrectores pili,* el aparato acomodador de la visión, los bronquios, etcétera.

Caracteres micrográficos. — Cuando se disocia á favor del ácido nítrico al cuarto ó de la potasa al 33 por 100 un trozo de tejido muscular liso, quedan en libertad multitud de corpúsculos alargados que, por no ofrecer rayas transversales, se han denominado *fibras musculares lisas* y también *fibro-células* de Kölliker, en honor del sabio que las descubrió.

Poseen las fibro-células una longitud que oscila entre 3 y 10 centésimas de milímetro; su espesor medio en la parte más gruesa, es de 6 á 12 μ. Su forma es la de un huso, es decir, abultada en su porción media donde se alberga el núcleo y adelgazada hacia los extremos, que acaban en puntas algo romas. En los cortes transversales se advierte que la sección de las fibro-células no siempre es redondeada, sino más ó menos poligonal; lo que prueba que la verdadera configuración de estos corpúsculos es la prismática con cabos progresivamente adelgazados.

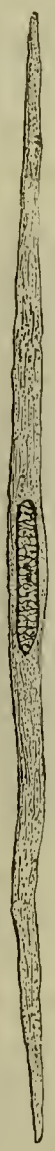

Fig. 229. — Fibra muscular lisa del intestino, aislada por el alcohol al tercio.

La textura de la fibro-célula debe estudiarse en preparaciones no tratadas por los reactivos disociantes, en aquellas, por ejemplo, en que los paquetes de fibras yacen en su posición normal, teñidas por el carmín de Grenacher ó por la hematoxilina. El *núcleo* es único, alargado en forma de bastoncito con extremos

redondeados (figs. 229 y 230); reside en la región central de las fibro-células y mide una talla de 14 μ ó más. Con buenos objetivos de inmersión, deja percibir una membrana incolora y un contenido cromático reticulado, cuyos hilos se disponen en gran parte de un modo transversal. No existe nucleolo verdadero, pero sí algunas gruesas nudosidades cromáticas. El *protoplasma* es finamente granuloso, excepto en las inmediaciones de los polos nucleares, donde los granos son gruesos y refringentes; esta granulación oculta una trama reticular, perceptible solamente con los más fuertes objetivos, y en la cual los hilos son en su mayor parte paralelos á la longitud de la célula, arrancando del núcleo y terminándose en los cabos del protoplasma. La *membrana* es finísima, elástica y difícil de discernir por su íntima unión con el retículo celular.

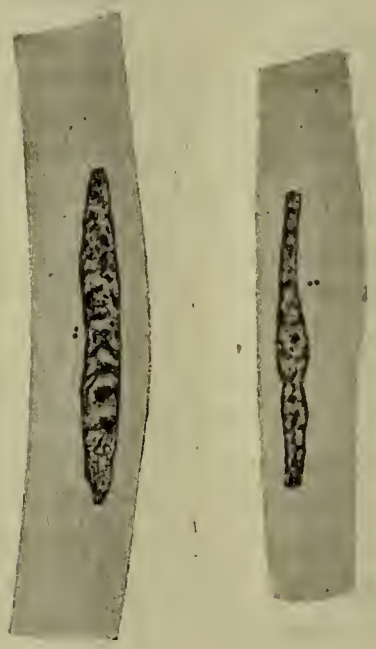

Fig 230.—Núcleo y centrosoma de las fibras musculares lisas, según v. Lenhossék.

En los últimos lustros se han publicado interesantes trabajos sobre la fina textura de las fibras musculares lisas, que confirman en principio la composición fibrilar supuesta por los histólogos, y añaden algunos detalles dignos de atención.

Así Heidenhain (1900), aplicando á las fibras lisas de los mamíferos su método de la hematoxilina ferruginosa, ha logrado distinguir en el cuerpo de dichas células dos clases de hilos: *recios ó tangenciales*, que atraen vivamente la hematoxilina, y *finos ó profundos*, poco coloreables (*Binnenfibrillen* de este sabio). Ambas especies de fibrillas interiores han sido confirmadas por Benda (1902), quien haciendo cálculos sobre el probable fisiologismo de dichas hebras, supone que las finas ó centrales gozarían de actividad contráctil, en tanto que las limitantes ó recias representarían un aparato elástico. Las fibras superficiales engendrarían una sola hilera cortical, en la cual cada hilo estaría separado de sus vecinos por un espacio claro (Heidenhain).

En los vertebrados inferiores, Schaper (1902) consiguió colorear enérgicamente con el método de Heidenhain las fibras recias ó superficiales, las cuales son espesas y exhibirían en la salamandra (fibras del mesenterio) segmentos alternados cromáticos y acromáticos. En opinión de Schaper, tales fibrillas gozarían de contractilidad.

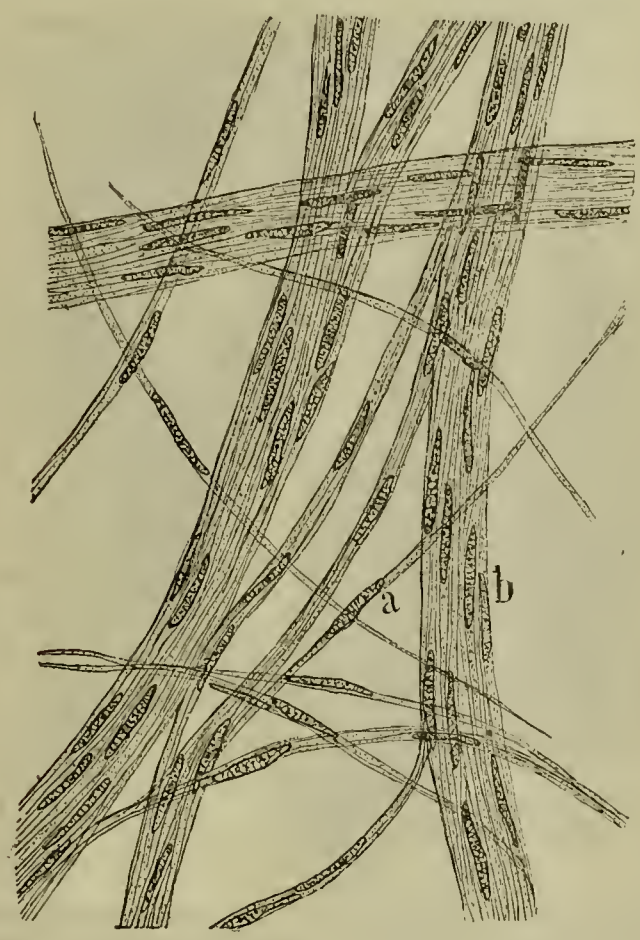

Fig. 231. — Fascículo de fibras musculares lisas de la vejiga de la rana. *a*, fibra suelta; *b*, fascículo.

Diplosomas. — Según Lenhossék y Zimermann (1898), el protoplasma de las fibras lisas contiene, cerca del núcleo y en una foseta de éste, un *microcentro* compuesto de dos minúsculos centrosomas. En la figura 230 damos una reproducción de los dibujos de Lenhossék.

Aparato reticular de Golgi. — Ha sido objeto de un buen estudio del Dr. Río Hortega (1913), el cual, aplicando el proceder del formol-urano, lo describe como un cordón residente cerca del núcleo y

provisto comunmente de ramas cortas de bifurcación que contornean parte de este órgano (fig. 232). Señala también el Dr. Río, en torno del núcleo, la existencia de una fibra espiral de vueltas apretadas, cuya misión podría ser (caso de confirmarse el hecho) preservar al núcleo de los efectos mecánicos de la contracción del protoplasma.

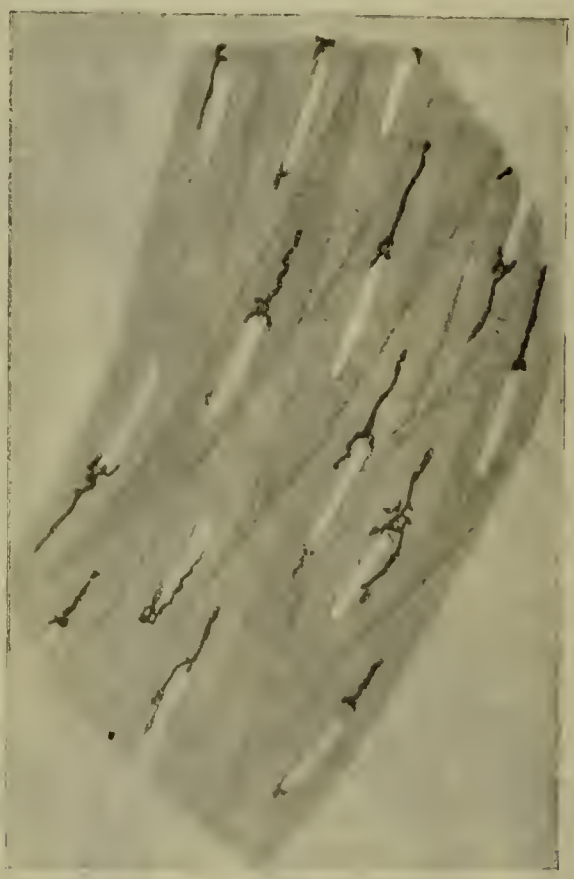

Fig. 232. — Fibras musculares lisas de la vejiga urinaria del perro. Aparato de Golgi. Método de Cajal (según del Río Hortega).

Haces de fibro-células. — Las fibras musculares lisas rara vez se hallan independientes; lo común es que formen haces separados por tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de los vasos y nervios de algún calibre (fig. 231, *b)*.

En cada haz, las citadas células están adheridas por sus caras á beneficio de un cemento tenaz que tiñe en negro el nitrato de plata y disuelven la potasa y ácido nítrico. Algunos autores (Barfurth, Kulschinky, Bohemann, Triepel, etc.) afirman que

esta unión de las fibro-células se refuerza con ayuda de fibrillas comunicantes, á la manera de las del cuerpo de Malpigio de la piel; pero, en nuestro sentir, estos sabios han tomado equivocadamente por filamentos de unión ciertas espinas ó asperezas del contorno de los elementos, mediante las que éstos se engranan íntimamente. El azul de metileno (método de Ehrlich), que tiñe perfectamente durante la vida las células musculares del intestino del conejo, no revela jamás los citados filamentos. Por lo demás, en los trabajos ya antiguos de Lenhossék (1899) y Henneberg (1900) y en el libro de Heidenhain (1911), encontramos demostraciones de cómo la retracción del protoplasma, ó sus desigualdades de contorno, ó, en fin, la presencia en los intersticios de un sistema de fibras reticuladas, prestan, á veces, apariencias de realidad á los citados puentes comunicantes.

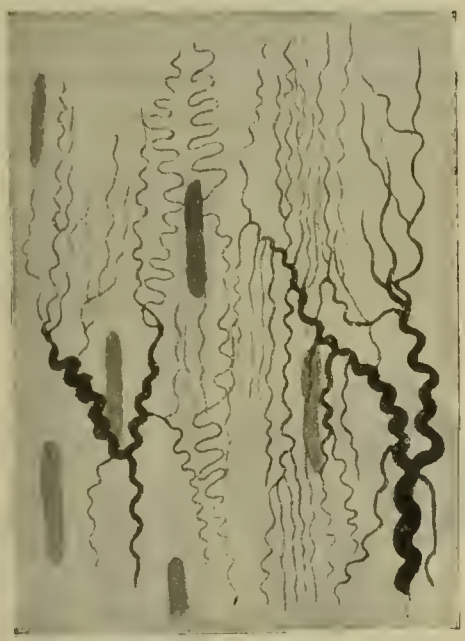

Fig. 233. — Tejido conectivo interfibrilar situado entre las fibro-células del intestino. Conejo de Indias (método de Achúcarro).

Para formar dichos haces, las fibro-células se disponen en series superpuestas y tan íntimamente encajadas, que semejan un epitelio pavimentoso estratificado. En los ángulos, que deja una serie ó hilera de fibro-células, penetran las puntas de los elementos de la serie inmediata.

Relativamente al modo de unión de las fibras lisas entre sí, menciona Schaffer un hecho singular hasta hoy no observado en los vertebrados superiores: las células se mostrarían independientes en todo su curso, salvo en una región próxima á la punta, al nivel de la cual entraría en comunicación con el ecuador de otro corpúsculo, al cual pasarían también las hebras primitivas.

Por último, los haces no conservan su individualidad en todo su trayecto, sino que acaban, mediante anastomosis, en otros hacecillos) ó se descomponen en manojitos secundarios, los cuales, juntándose y separándose muchas veces, engendran una vasta red muscular. Los trabéculos de esta red afectan á menudo una dirección paralela (túnica media de las arterias, intestinos, etc.); en otros casos carecen de orientación predominante (túnica muscular de la vejiga, etc.).

Retículo conectivo intersticial. — En sentir de varios autores (Bruyne, Werner, Heidenhain, Schaffer, etc.), el cemento mismo intercelular contendría una trama reticular finísima extendida en torno de la célula y continua consigo misma en la totalidad del hacecillo. Afecta esta trama, según Schaffer, disposición alveolar, tíñese algo por la picrofuchina y no parece estar en continuación con expansiones de corpúsculos conectivos, según pensaba Bruyne.

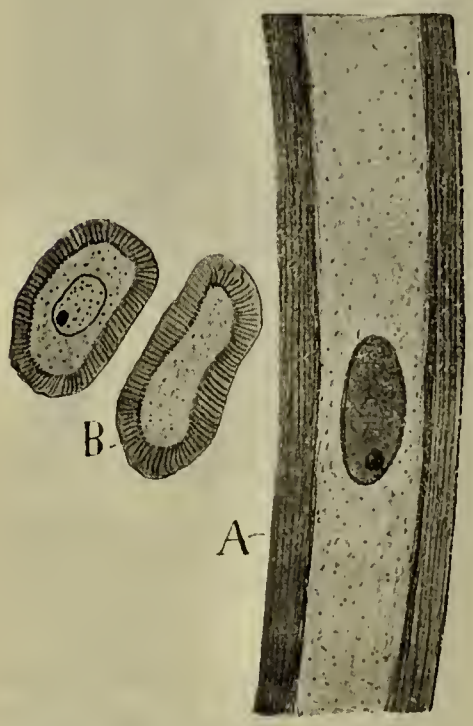

Fig. 234. — Fibras musculares lisas tubulares de la sanguijuela. — A, fibra á lo largo; B, secciones de dos fibras.

Nuestras ya antiguas observaciones nos permiten asegurar que, en efecto, existe un estroma delicadísimo entre las fibras musculares lisas, comparable á la urdimbre conectiva intrafascicular de los nervios y coloreable á veces por el método de Ehrlich.

También Heidenhain (1911) confirma la existencia de esta urdimbre, que presenta como un sistema de láminas tubulares que envainan las fibro-células y el cual es cortado en ángulo recto por numerosos cordones macizos transversales paralelos, en parte continuos con las vainas.

En el espesor de las vainas colágenas correrían, según Holgrem (1904), finísimas fibras elásticas espiroideas, que trazan vueltas complicadas en torno de las células contráctiles. Recientemen-

te (1913) Río Hortega ha impregnado con el método de Achúcarro este sistema de fibras de que damos reproducción en la figura 233. Acerca de su naturaleza colágena ó elástica existen todavía incertidumbres.

Fibras lisas de los invertebrados. — Descendiendo en la escala animal, obsérvanse varios tipos de fibras lisas. Los principales son dos: 1.°, célula muscular tubular ó con eje sarcoplasmático; y 2.°, célula maciza con sarcoplasma y núcleo periférico.

Del primer tipo hallamos un buen ejemplo en la sanguijuela, á la que pertenece la fibra copiada en la figura 234. Nótese que el espesor del corpúsculo es sensiblemente igual en toda su enorme longitud, y que consta: de una corteza brillante, estriada á lo largo y formada por tenuísimas hebras paralelas; y una región central granulosa, de aspecto de protoplasma indiferenciado, en donde residen los núcleos. En algunas fibras aparece ya un esbozo de estriación transversal. Células semejantes hállanse también en los gasterópodos.

El segundo tipo es propio de los nematodos. Aquí la célula es colosal, afecta figura en huso, y el protoplasma indiferenciado, portador del núcleo, constituye un lóbulo ó excrecencia lateral enorme.

VARIEDAD MUSCULAR ESTRIADA

Distribución y caracteres macroscópicos. — Reside esta variedad muscular en todos los músculos de contracción rápida, estén ó no sometidos al estímulo de la voluntad. Entre los involuntarios, pueden citarse el corazón, diafragma y músculos fisionómicos, y entre los involuntarios casi todos los del tronco, extremidades, cuello, cabeza, etc.

A la simple vista, el tejido muscular se presenta rojizo, de aspecto fasciculado y dividido en paquetes paralelos, separados por finos tabiques grises. Su consistencia es semiblanda en estado de relajación, y dura en el de encogimiento; su elasticidad y extensibilidad son muy notables. Teniendo en cuenta la coloración se han distinguido los músculos en *rojos* y *pálidos* ó *rosáceos* (Ranvier), diferenciación bien marcada en el conejo.

Caracteres micrográficos. — Los últimos elementos de constitución á que por disociación pueden reducirse los músculos estriados, son unas células larguísimas, multinucleadas, de aspecto estriado, que se designan *fibras musculares ó haces primitivos.*

Afectan estos elementos forma prismática, con aristas algo redondeadas (fig. 235); su diámetro oscila entre 20 y 40 μ; su longitud es enorme, alcanzando, según Krause, de 4 á 5 centímetros, y terminando por cabos redondeados y más ó menos adelgazados; su color es blanco rosáceo ó amarillento en los mamíferos, y casi del todo blanco en los batracios, reptiles y peces.

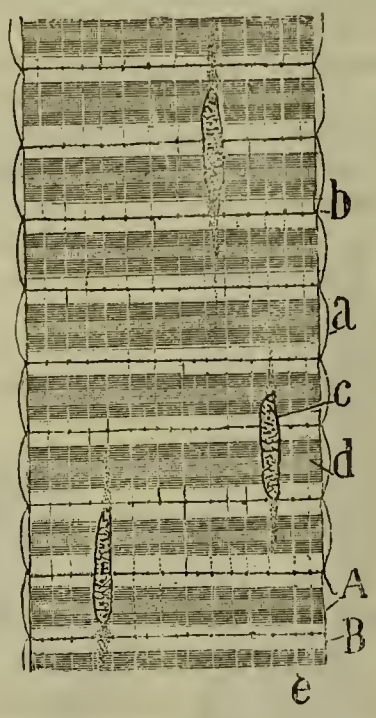

Fig. 235. — Fibra muscular de las patas del hidrófilo. Examen en estado fresco. — *a*, sarcolema; *b*, línea de Krause; *c*, núcleo; *d*, banda de Hensen. — A, banda ancha ó bi-refringente; B, banda estrecha ó mono-refringente.

Estructura. — Examinada la fibra muscular con ayuda de buenos objetivos, nos revela cinco factores de composición: el sarcolema, los núcleos, la materia estriada, la red intersticial y las inclusiones ó *sarcosomas*.

Sarcolema.— Es la membrana fina, homogénea y elástica que rodea la fibra muscular. En las fibras vivas se percibe difícilmente, por estar íntimamente aplicada al material estriado; pero en los corpúsculos musculares tratados por el agua, dicha membrana se separa en bolsas ó replegamientos que la hacen claramente reconocible. Cuando se observan la fibras en estado de contracción, se nota que el sarcolema se adhiere solamente al material estriado, al nivel de cierta región de éste, llamada *línea de Krause* (fig. 235, *a*, *b*).

Núcleos. — Son numerosos, elipsoides, y se orientan paralelamente á la fibra muscular. En los mamíferos residen los núcleos debajo del sarcolema; pero en los batracios, reptiles, peces y algunos géneros de insectos, habitan tanto debajo de esta membrana como en el espesor de la materia estriada.

Teñidos por el carmín, la hematoxilina ó el verde de metileno, presentan los núcleos una fina cubierta acromática y un

armazón reticular de nucleína, cuyas mallas poseen dirección transversal. Según van Gehuchten, los trabéculos nucléicos ó cromáticos se dispondrían en una espiral de vueltas transversales. De los polos del núcleo surgen unas tiras granulosas, de aspecto protoplásmico, que se continúan con las estrías longitudinales del fascículo muscular (fig. 235, *c*). Cerca del núcleo el método del urano-formol revela á veces un cordón ó una serie de granos transversales que parecen representar la porción no regularizada del aparato de Golgi.

Materia estriada. — Esta substancia, así llamada por las bandas ó estrías que la cruzan en dos sentidos perpendiculares, representa el protoplasma de las células musculares. Pero este protoplasma ha sufrido tales diferenciaciones, y ha adquirido tal complicación estructural, que no puede reducirse, sin grandes esfuerzos, al tipo de construcción del cuerpo de las células comunes.

Los aspectos que ofrece la materia estriada son casi tan diversos como los métodos que para su demostración se han imaginado. Esta diversidad de efectos producidos por los reactivos, así como la extrema delicadeza de muchos detalles de textura — detalles que tocan ya por lo sutiles en los límites del poder resolvente del microscopio — explican el desacuerdo de los histólogos, en lo tocante á la constitución íntima de la materia estriada. Los sabios que lo fían todo á la acción fijadora del ácido ósmico y alcohol, suponen formado el material estriado de fibras sueltas, paralelas, fácilmente disociables (cilindros de Kölliker); los que tienen en más el poder revelador de los ácidos ó del cloruro de oro, imaginan una red de finísimas hebras que se teñirían en violado por este último reactivo; finalmente, los que se apoyan en los aspectos revelados por la potasa ó el ácido hidroclórico diluído, prefieren la hipótesis de una construcción discoidea, es decir, de una especie de colmena de cajas ó discos huecos, en cuyo interior residiría la materia contráctil.

Nosotros, en presencia de estas discordancias, expondremos primeramente el aspecto que las fibras musculares vivas nos presentan bajo los mejores objetivos; indicaremos luego los cambios que en dichas fibras determinan los reactivos, y señalare-

mos, finalmente, la interpretación que parece más racional en el estado actual de la ciencia.

Examen de las fibras musculares vivas. — Son particularmente propicias para este examen por la magnitud y claridad de sus estrías, las fibras musculares de las patas de los insectos *(Hidrophylus piceus,* etc.). En los mamíferos aparecen los mismos detalles, pero con menos definición á causa de su delicadeza.

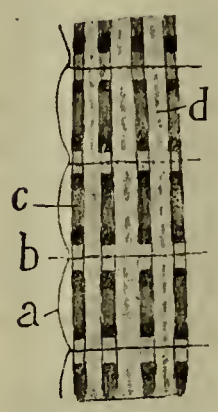

Fig. 236. — Pedazo de fibra muscular de un mamífero. Aumento notable (figura semiesquemática) y examen en una preparación fijada por el alcohol. — *a*, sarcolema; *b*, línea de Krause; *c*, disco obscuro con su porción central relativamente clara; *d*, sarcoplasma y restos granulosos de las fibrillas preexistentes.

Dos clases de bandas cruzan la materia estriada: las transversales y las longitudinales.

Las *bandas transversales* son de dos clases: *anchas ó espesas* (figura 235, A), bi-refringentes y más ó menos colorables por la hematoxilina (banda Q de Heidenhain); *delgadas ó claras,* mono-refringentes é incolorables por dicho reactivo (banda J de Heidenhain) (fig. 235, B). Estas dos clases de rayas alternan rigurosamente, conservan un espesor sensiblemente uniforme y penetran en todo el grueso del material estriado.

Enfocándolas cuidadosamente, nos muestran todavía dos nuevas líneas transversales: una finísima, de aspecto granuloso, situada en el medio de la banda clara y llamada *línea de Krause* ó de Amicis (fig. 235, *b);* otra más ancha, colocada en el centro de la banda espesa ó bi-refringente y designada *raya de Hensen* (fig. 235, *d).* La raya de Krause se adhiere periféricamente al sarcolema, el cual aparece más ó menos plegado al nivel del espacio correspondiente á las otras bandas (fig. 235, *a).*

Las bandas longitudinales son también de dos clases: unas anchas, paralelas, más ó menos claras, que corresponden á lo que los autores llaman *fibrillas musculares ó cilindros primitivos* (fig. 235); otras finas, obscuras, alternantes con las anchas,

y las cuales representan los *tabiques protoplasmáticos* de ciertos autores ó el sarcoplasma de otros (fig. 235, *e*).

Aspecto de las fibras fijadas por el alcohol y disociadas con las agujas. — Una fibra muscular de insecto ó de vertebrado, tratada de esta suerte, se descompone en una multitud de fibrillas de notable delgadez *(cilindros primitivos, columnas musculares, fibrillas primitivas,* etc.), de cuya reunión en haz apretado parece resultar la fibra ó fascículo muscular primitivo. Dichas fibrillas exhiben las mismas bandas que éste, á saber: una ancha, colorable por la hematoxilina; otra estrecha, incolorable por este reactivo. En el fondo de la banda ancha se distingue la línea de Hensen, y en medio de la estrecha la de Krause. Si las fibrillas se estiran considerablemente durante la disociación, las rayas se multiplican todavía; la banda obscura ó ancha aparece descompuesta en 7 rayas, de las cuales 4 son obscuras y 3 claras (fig. 237, C); por su parte, la banda clara ó mono-refringente exhibe otras dos líneas vagamente diseñadas y situadas encima y debajo de la línea de Krause *(discos accesorios)*. Algunos autores, Heidenhain (1911) entre ellos, describen todavía una banda finísima al nivel de la raya de Hensen, la cual se prolonga al través del sarcoplasma al modo de la de Krause.

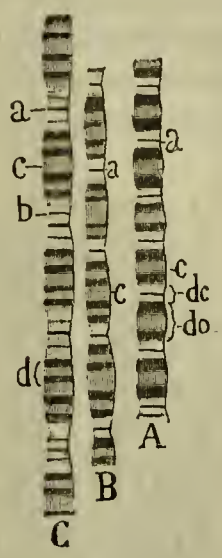

Fig. 237. — Fibrillas primitivas disociadas procedentes de los músculos de las alas del hidrófilo. — A, fibrilla poco estriada; B y C, fibrillas fuertemente tensas. — *a*, raya de Krause; *c*, raya de Hensen; *do*, disco obscuro; *dc*, disco claro; *b*, raya de Engelmann; *d*, desdoblamiento de cada mitad del disco obscuro.

Todas estas rayas se ven con gran precisión en las fibrillas primitivas de las fibras musculares de las alas del hidrófilo (fig. 237). Tales fibrillas son relativamente espesas, se disocian facilísimamente y sus bandas ó discos obscuros (bandas bi-refringentes) atraen vivamente la hematoxilina. Por lo demás, dichas rayas aparecen también, aunque con menos precisión, en las

fibrillas primitivas del haz muscular de los mamíferos (fig. 236).

Las preparaciones á que nos referimos revelan dos detalles más: que las fibrillas primitivas están pegadas al nivel de la línea de Krause, y que entre ellas, á lo largo de las mismas, existe una materia granulosa, dispuesta en tabiques transparentes, cuya falta de cohesión permite la disociación de dichos cilindros primitivos (fig. 236, *d)*.

En suma, las preparaciones fijadas en el alcohol y disociadas, demuestran que el hacecillo muscular consta de fibrillas paralelas, compuestas á su vez de discos alternados bi-refringentes y mono-refringentes, y separadas por tabiques protoplásmicos granulosos. La estriación transversal del haz muscular depende de que las bandas de igual naturaleza de toda fibrilla primitiva yacen exactamente en el mismo plano.

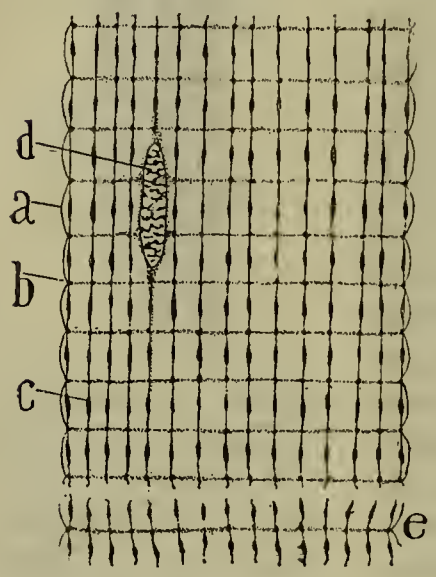

Fig. 238. Fibra muscular tratada por el cloruro de oro y ácido fórmico (método de Lœwit). – *a*, sarcolema; *b*, línea de Krause; *c*, fibrillas preexistentes; *d*, núcleo; *e*, disco de Bowman visto de perfil.

Aspecto de las fibras musculares tratadas por los ácidos y cloruro de oro. — Impregnando las fibras musculares vivas, bien por el método de Lœwit, bien por los de Ciaccio, Melland, Retzius, etc., los haces primitivos se hinchan, adquieren color rojo violáceo á causa de la reducción del cloruro de oro, y muestran una singular tendencia á descomponerse, no en cilindros primitivos, sino en discos transversales que interesan todo el espesor del haz *(discos de Bowman)*.

Examinando uno de estos haces á lo largo, lo primero que llama nuestra atención es que los cilindros primitivos ó fibrillas musculares han desaparecido, disueltas por el ácido fórmico; en su lugar se presentan unos espacios longitudinales, claros, lle-

nos de una materia homogénea y semilíquida (fig. 238). Al nivel de los tabiques protoplásmicos adviértense ahora unos finos hilos longitudinales, que el oro tiñe de violeta (fig. 238, *c*). Semejantes hebras, que se llaman *fibras preexistentes* ó *protoplásmicas,* exhiben dos clases de engrosamientos fuertemente impregnados: uno, fusiforme, que corresponde á la banda ancha (fig. 238, *c*); otro, esferoidal y de menor dimensión, emplazado en el paso de dichos hilos por la banda de Krause. Cuando las fibras se hallan en relajación enérgica, el engrosamiento fusiforme suele faltar. Dichos preparados enseñan también que de todas las rayas transversales, la única que ha resistido á la acción de los ácidos es la de Krause (fig. 238, *b*), la cual se muestra granulosa, adherida á la membrana sarcolemática y muy análoga, por su aspecto y composición química, á las fibrillas de los tabiques protoplásmicos.

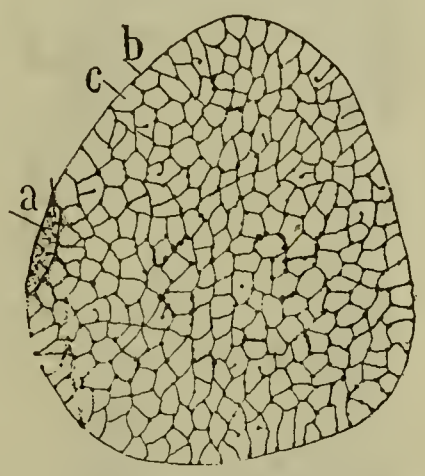

Fig. 239. — Disco de Bowman visto de plano. — *a,* núcleo; *b,* sarcolema con la red que yace en la línea de Krause; *c,* campos de Conheim.

El examen de plano de los discos de Bowman ó de cortes transversales de los haces musculares (fig. 239), permite reconocer que las líneas de Krause, además de contener discos homogéneos, son el perfil ó vista de canto de una red protoplásmica transversal, formada por finos trabéculos, y por cuyas nudosidades pasan las hebras longitudinales reveladas por el cloruro de oro. Las mallas de este retículo han tomado el nombre de *campos de Conheim* y están ocupadas por los cilindros ó fibrillas primitivas de los autores (fig. 239, *c*).

Finalmente, tanto las redes transversales como las hebras preexistentes se ponen en relación de continuidad con aquella capa protoplásmica que rodea los núcleos, circunstancia que parece indicar que todo este sistema de trabéculos longitudinales y transversales, no representa generalmente otra cosa

que un retículo protoplasmático, diferenciado y regularizado.

En suma; los ácidos asociados al cloruro de oro, así como la potasa, la sosa, etc., revelan en el haz muscular una infinidad de delicadísimas hebras longitudinales unidas, de trecho en trecho, por redes transversales situadas al nivel de la línea de Krause. Dichas fibrillas son invisibles en las preparaciones tratadas por el alcohol, bicromatos, ácido ósmico, etc., y aparecen emplazadas en lo que ciertos autores llaman *tabiques protoplásmicos (sarcoplasma* de Rollet).

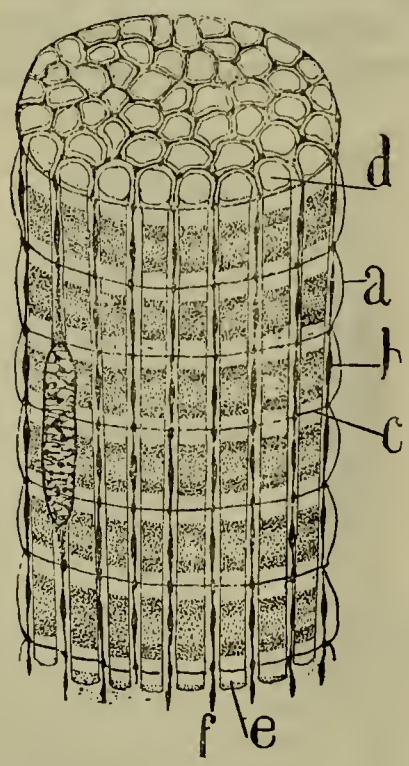

Fig. 240. — *a*, sarcolema; *b*, fibrillas de protoplasma ó preexistentes; *c*, línea de Krause ó redes transversales; *d*, fibrilla primitiva que llena el campo de Cohnheim; *e*, extremo de una fibrilla primitiva (figura esquemática).

Integración de los resultados parciales analíticos y constitución probable del hacecillo muscular.—Sintetizando las revelaciones de los diversos reactivos, y prescindiendo de aquellos efectos ó mutaciones que, por su inconstancia ó por no preexistir en el estado fresco, cabe considerar como artificiales, podremos estimar la trama estriada compuesta de dos sistemas de fibras: uno que tiene el valor de un retículo protoplásmico y que no es otra cosa que la vasta red formada por las fibrillas longitudinales y transversales colorables por el cloruro de oro; otro constituído por los cilindros primitivos de los autores, y el cual representa una inclusión celular altamente diferenciada. Entre los cilindros primitivos (compuestos, como ya expusimos más atrás, de la superposición de discos bi-refringentes y mono-refringentes) yace un plasma transparente en un todo comparable con el jugo que llena las mallas del protoplasma de las células comunes. Este jugo corresponde al sarcoplasma de Rollet, y en él residen las

fibrillas longitudinales y transversales demostradas por los ácidos y cloruro de oro. En los insectos, como hemos descrito en otro trabajo (1), semejante líquido interfibrilar aloja infinidad de ramillas de tráqueas, las cuales no penetran jamás en los cilindros primitivos. Semejante detalle estructural manifiesta que el sarcoplasma es la atmósfera nutritiva y respiratoria de tales cilindros; en él se disuelve el oxígeno aportado al músculo, y á él vienen á parar el ácido carbónico y demás productos de la combustión y nutrición. En cuanto á las redes transversales, que, como es sabido, se adhieren íntimamente al contorno de las líneas de Krause de los cilindros primitivos, pueden considerarse como un medio de sujeción transversal de éstos, á fin quizás de hacerlos completamente solidarios en el fenómeno de la contracción. Además, dado que las redes transversales comunican con la materia granulosa de la placa motriz, es muy probable que mediante ellas sea transmitida la corriente nerviosa á la totalidad de los cilindros primitivos, con lo cual todo el vasto sistema de fibrillas revelado por el cloruro de oro viene á representar un conjunto de líneas de descarga de la energía nerviosa. En la figura 207 damos un esquema de esta concepción de la textura de la materia estriada; en él aparecen reunidas cuantas revelaciones positivas se deben á los métodos utilizados en el análisis de la fibra muscular. Hemos excluído de dicha figura el aparato reticular de Golgi y los sarcosomas de Holmgren. La reproducción de estas inclusiones, de que trataremos más adelante, hubiera complicado demasiado la representación esquemática.

Algunas concepciones autorizadas sobre la constitución íntima de la fibra muscular. — La opinión que acabamos de exponer no tiene la pretensión de ser definitiva, ni completa; fúndase en los hechos positivos arrojados por las investigaciones de Brucke, Ranvier, Krause, Kölliker, Rollet, Melland, Retzius, van Gehuchten, Carnoy, Cajal, Macallum, Marshall, Schäfer, etc., hechos de los cuales hemos elegido aquellos que, á más de estar perfectamente probados, podían fácilmente conciliarse y fundirse en una noción total. Por otra

(1) *Cajal:* Coloration par la méthode de Golgi des trachées et des nerfs dans les muscles des ailes des insectes. *Zeitschrift. f. wissensch. Mikroskopie,* etc., Bd. VII, 1890.

parte, recientes estudios sobre la textura de la fibra muscular de los insectos nos han convencido de que, en las doctrinas corrientes acerca de este difícil problema, existen exclusivismos de secta inconciliables con lo que se desprende de la observación fría y serena de los hechos. A nuestros ojos, tan exclusivo y parcial es Rollet, cuando niega la preexistencia de las fibrillas y redes reveladas por los ácidos, tomándolas como engrosamientos del sarcoplasma, como Melland y van Gehuchten, al estimar los cilindros primitivos de los autores como mero enquilema ó jugo intra-protoplásmico del retículo, solamente reductible á fibras por la acción coagulante de los reactivos.

No obstante, y en prueba de imparcialidad, expondremos aquí las opiniones que han aparecido durante los últimos decenios sobre el difícil y controvertido asunto de la estructura de la materia estriada:

1.° La materia estriada es una reunión de cilindros ó columnas primitivas, compuestas á su vez por la sucesión alternativa de discos mono y bi-refringentes. Al nivel de las rayas de Krause, tales cilindros se unirían transversalmente entre sí, y á la misma altura quedaría sujeto el sarcolema al material estriado. Entre los cilindros ó fibras primitivas, existiría una masa de protoplasma, el *sarcoplasma,* dispuesto en tabiques anastomosados á la manera de panal, y continuados con el acúmulo granuloso perinuclear. Las hebras violadas que en tales tabiques descubre el cloruro de oro, representarían la sección óptica de dichos tabiques, y los granos y redes transversales serían meros espesamientos de protoplasma. A este dictamen se adhieren, con más ó menos distingos, Ranvier, Rollet, Kölliker, Retzius y Heidenhain, Schäfer, Marceau, Holmgren, Duesberg, Thulin, etc., etc.

Esta concepción general ha sido un tanto modificada por algunos de sus mantenedores, entre los cuales merece especial mención M. Heidenhain.

El célebre histólogo de Tubinga, en una serie de análisis penetrantes (1899 á 1911), consagrados á la constitución de la materia estriada, introduce en la doctrina clásica importantes modificaciones, así en el lenguaje como en el fondo. Por lo que hace á la nomenclatura de las rayas, modifica la actual, inspirándose en las notaciones literales usadas por los físicos para la diferenciación regional del espectro solar. El *disco obscuro* es designado *raya Q;* el *claro, raya J;* la *línea de Krause, raya Z;* la *de Hensen, línea M.* El período regular de las estrías toma el nombre de *kommata.* En fin, la *fibra primitiva* desígnase *miofibrilla,* vocablo hace tiempo usado por Apathy.

En cuanto al fondo, Heidenhain aporta algunas nociones interesantes. El komata representaría una metamera, es decir, un órgano bien individualizado y separado de sus congéneres á favor de un tabique transversal ó diafragma que invade el sarcoplasma, pro-

longándose transversalmente por toda la fibra: es el *telofragma,* residente al nivel de la línea de Krause; pero hay otro tabique, el *mesofragma,* hace tiempo señalado por Merkel y Schiefferdecker, yacente en el centro de la línea de Hensen, con la que no debe confundirse, pues se trata de finísima y casi imperceptible membrana transversal, prolongada al través del sarcoplasma. En la figura 241, donde reproducimos uno de los grabados de Heidenhain, aparecen claramente tales diafragmas, así como las bandas del komata ó período. Admite además dicho sabio la existencia de finísimos tabiques longitudinales insertos en las miofibrillas, por donde la fibra muscular quedaría reducida á un sistema de cajas minúsculas llenas de líquido, y en cuyas paredes quedarían empotrados los komatas ó períodos de las miofibrillas.

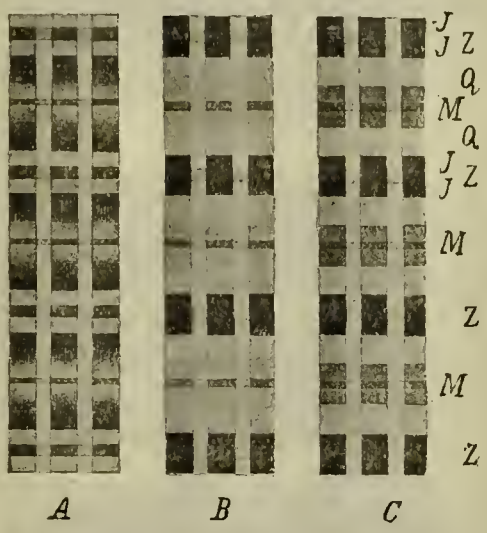

Fig. 241. — Miofibrillas de la larva del tritón, coloreadas por el rojo de *thiazina* ó el moreno de *thiazina,* mas el *azul de toluidina.* — A, aspecto ordinario de la coloración de los discos; B, C, coloración invertida de los mismos (la banda Q ó bi-refringente aparece clara y obscura la J ó mono-refringente). Nótese en el nivel de M el *mesofragma* (según Heidenhain).

Finalmente, basándose en interesantes observaciones de crecimiento y dimensión de las miofibrillas del embrión, admite Heidenhain en éstas una metaestructura ó estructura ultramicroscópica. En su sentir, la materia de cada banda transversal consta de protomeras ó unidades vitales infinitesimales, susceptibles de crecimiento y multiplicación, al modo ó de las neurobionas admitidas por nosotros en el espesor de las neurofibrillas. También Thulin (1912), ha reconocido recientemente la metaestructura del disco anisótropo en los insectos.

2.º El haz muscular posee, como toda célula, un retículo filamentoso, nacido de los núcleos é inserto en el sarcolema. Este armazón fibrilar es colorable por el cloruro de oro, y está formado de hilos longitudinales y paralelos unidos, de trecho en trecho y en sentido transversal, por redes plotoplásmicas yacentes al nivel de la línea de de Krause. La substancia matriz líquida donde tales fibrillas se contienen, corresponde á los cilindros primitivos de los autores y es reductible á fibras gruesas, verdaderos productos artificiales, por la ac-

ción del alcohol. Las estrías claras del fascículo muscular representarían meros efectos ópticos, no correspondiendo á discos especiales. En el centro de estos cilindros obtenidos por coagulación, residirían las fibrillas colorables por el oro. Finalmente, el retículo representa la parte activa del haz muscular; mientras que los cilindros primitivos corresponderían á una materia inerte, líquida durante la vida, y destinada á la nutrición del retículo. Con leves variantes, profesan esta opinión, Melland, Carnoy, van Gehuchten, Marshall, Haswell, Macallum, etc. Esta opinión, harto exclusiva, cuenta cada día con menos partidarios.

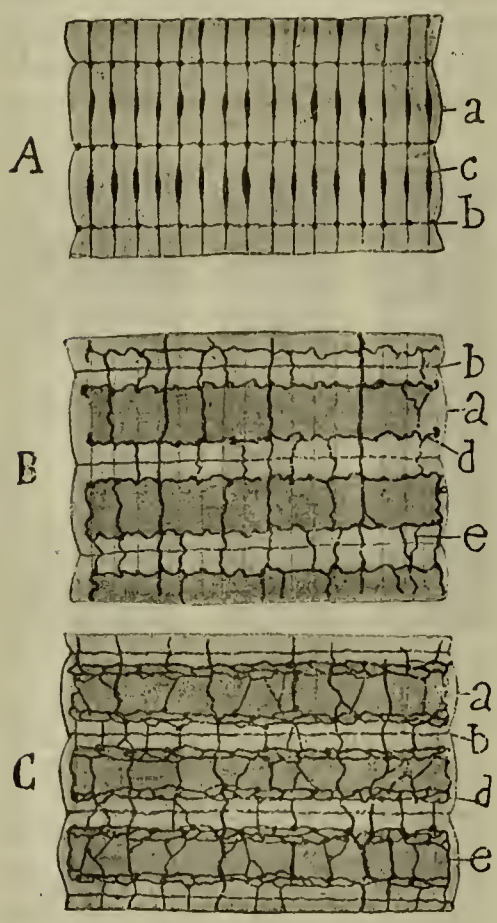

Fig. 242. — Trozos de fibra muscular de insecto. — A, fibra trazada por el cloruro de oro; B, fibra *Geotrupes stercorarius* tratada por el método de Golgi; *d* y *e*, trabéculos del aparato reticular; C, músculos de otro insecto en el cual las redes del sistema de filamentos se complican notablemente *(c, d)*. (Según D. Sánchez).

3.º La fibra muscular está construída de columnas huecas, unidas entre sí por el sarcoplasma de Rollet. Estas columnas son paralelas, corresponden á los cilindros primitivos de los autores y aparecen segmentadas en cajas discoideas superpuestas *(sarcomeras* de Schäfer). Dentro de las cajas, cuyas paredes superior é inferior no son otra cosa que las membranas de Krause, flota un disco bi-refringente que desempeña un papel activo en la construcción muscular.

Según Krause, el líquido en que se baña el disco bi-refringente (elemento sarcódico de varios autores) se acumularía en el momento de la contracción en los lados de la caja, con lo cual el diámetro vertical de la cavidad disminuiría; y al contrario, en estado de relajación, el líquido se reuniría encima y debajo del elemento sarcódico, alargándose la caja muscular.

En sentir de Schäfer, que defiende modernamente, algo modificada, la hipótesis de las cajas que acabamos de enunciar, el elemento sarcódico ó masa bi-refringente de la sarcomera hállase unida á las paredes laterales de aquéllas á favor de un tabique medio, correspondiente á la línea de Hensen, y en su espesor contendría dos series de conductitos, en los cuales podría penetrar el líquido de la caja. En estado de relajación, el líquido no distiende los citados conductos, acumulándose especialmente en las dos caras de la línea de Krause, y engendrando la llamada banda clara ó mono-refringente de los cilindros primitivos; mas en estado de contracción, el licor mono-refringente dilata los mencionados tubitos, la banda clara disminuye y el elemento sarcódico ó cuerpo bi-refringente de la caja adquiere gran espesor. También Heidenhain, según dejamos consignado más atrás, admite en el fondo la concepción de la *caja muscular.*

Aparato reticular de la materia estriada (redes de Cajal-Fusari, según Sánchez). Nuestras investigaciones ya antiguas (1890), efectuadas con el método de Golgi, revelaron la existencia en las fibras musculares de los insectos de un sistema de redes horizontales sutilísimas completamente independientes del retículo impregnable por el cloruro de oro, y las cuales nacen de las últimas ramificaciones de las tráqueas.

Este sistema reticular, formado por finísimas trabéculas de 0'2 μ ó menos todavía, se compone comunmente de dos redes horizontales situadas en el sarcoplasma, cerca del intervalo de dos rayas de Krause. Sin embargo, el número de redes transversales por intervalo, así como la dirección y conexiones de sus trabéculas, varía según los músculos de los insectos examinados. Mientras en los músculos de las patas y en los músculos de las alas de ciertos insectos percíbense dos redes horizontales continuas, situadas en las fronteras de la estría bi-refringente y mono-refringente (fig. 242, B), en los músculos disociables de las alas (coleópteros, muscidos, etc.) sólo se encuentra una red emplazada al nivel de la raya de Hensen (fig. 243, *b)* y orientada á veces con alguna irregularidad. De una red á otra van trabéculas comunicantes algo más gruesas, y éstas, reuniéndose con otras, dan origen á los ramos terminales de las tráqueas. En los cortes transversales del haz muscular apréciase bien que las referidas redes se extienden á todo el espesor del material

estriado y que en sus mallas alójanse las fibrillas primitivas ó prismas musculares.

Las redes horizontales á que aludimos no son peculiares de los insectos. Las investigaciones de Fusari y Veratti (1902), confirmadas recientemente por Sánchez (1907) y Holmgren (1909), han demostrado la existencia de redes idénticas en los crustáceos y en los varios órdenes de vertebrados. Puesto que aquí faltan tráqueas, las trabéculas periféricas del retículo no pueden afectar igual disposición.

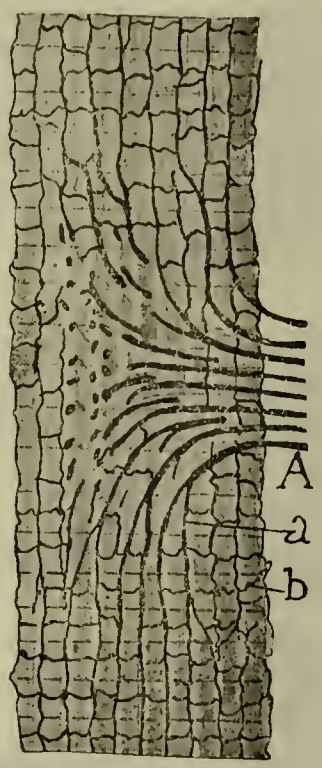

Fig. 243. — Trozo de una fibra muscular de las alas del hidrófilo. Método de Golgi. – A, tráqueas; *a*, ramas traqueales longitudinales situadas entre los cilindros primitivos; *b*, trabéculas transversales del aparato reticular. (Según Sánchez).

Según mostramos en la fig. 244, *d* las redes se anastomosan entre sí á favor de trabéculos longitudinales y las ramas más periféricas, aquellas que están en inmediato contacto con el sarcolema, acaban libremente generando, como Sánchez ha observado bien, ciertos fondos de saco más ó menos limitados y como flotantes en un espacio plasmático periférico (fig. 244, *e*).

Imposible es decidir si semejante armazón reticular está constituído por tubos ó por fibrillas macizas como pretenden Fusari, Veratti y Holmgren; de existir un hueco interior, escapa, por su extraordinaria sutileza, al poder resolvente de los mejores objetivos. Considerando que el citado aparato reticular posee muchas de las propiedades morfológicas y químicas del sistema endocelular de Golgi-Holmgren, con el cual ha sido atinadamente identificado por Veratti, Sánchez, Holmgren, Heidenhain y Thulin (1912), estimamos probable que constituya, en efecto, un aparato de Golgi legítimo, pero de extensión y delicadeza excepcionales, disponiéndose estrati-

gráficamente y con sorprendente regularidad, por estrecha acomodación á la estructura finamente estratificada del material estriado.

Plausible es también la suposición de que semejante sistema reticular sufra metamorfosis solidarias de los diversos estados funcionales por que pasa la substancia contráctil. Esto explicaría las diversas formas con que se nos presenta en los preparados de Golgi y en los del nitrato de plata reducido. Conforme mostramos en la figura 244, B, tomada del trabajo de Sánchez, las citadas reticulaciones preséntanse unas veces con gran evidencia, mostrándosenos, tanto los trabéculos longitudinales, como los transversales (B); mientras que en otros casos (A) los trabéculos se adelgazan tanto que resultan casi invisibles, concentrándose toda la materia de la red (quizás el contenido viscoso de la misma) en granos recios intensamente coloreables, confinados en los nudos de reticulación horizontal.

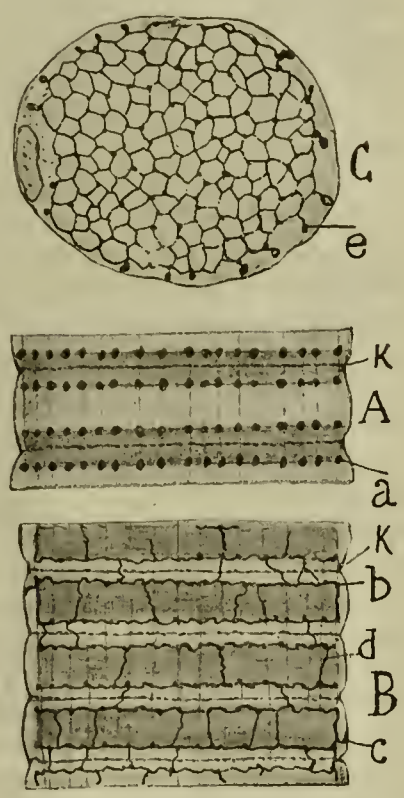

Fig. 244. — Trozos de fibra muscular estriada de un mamífero. Coloración con el método de Golgi. — A, fibra en que no aparece el sistema reticular, presentando al nivel de los nudos de las redes transversales de éste acúmulos esferoidales *(a)*; B, trozo de fibra donde se muestran bien las citadas redes; *k*, raya de Krause; *b*, redes horizontales; *c*, trabéculo longitudinal; C, aparato reticular visto de plano; *e*, dilataciones periféricas bajo el sarcolema.

El número de redes transversales coloreables por el método de Golgi en las fibras de los mamíferos es de tres en sentir de Fusari y Veratti: dos fácilmente reconocibles emplazadas encima y debajo del disco anisótropo y otra residente en el espesor de la raya de Krause. Nuestras observaciones, plenamente confirmatorias de las de Sánchez, nos han persua-

dido de que esta tercera red es pura apariencia debida al fenómeno, no muy frecuente, de la dislocación longitudinal de las dos redes típicas, las que, aproximándose á la raya de Krause, pueden dar la imagen confusa de una reticulación central única. En realidad la red horizontal de la banda de Krause, que se colorea muy bien por el cloruro de oro, no se impregna jamás por el cromato argéntico.

En estos últimos años Holmgren (1907-1910), inspirándose en su ingeniosa hipótesis del *trofospongio,* ha tratado de identificar las redes intrafasciculares descubiertas por nosotros, Fusari y Veratti, con aquel sistema de prolongaciones protoplásmicas de células neuróglicas penetrantes en determinadas neuronas colosales de los invertebrados.

El observador sueco, después de hacer un excelente estudio morfológico de las citadas redes en toda la serie animal, admite también, con Veratti y Sánchez, que representan el aparato reticular de Golgi-Holmgren de las neuronas y otros elementos; mas á semejanza de lo ocurrido con ciertas gruesas células nerviosas de invertebrados, supone que dichas trabéculas son huecos en que penetran expansiones protoplásmicas de ciertas células exteriores. La naturaleza de tales elementos adventicios variaría según las especies animales.

En los insectos, dichas redes derivan de la última célula constitutiva de las finas tráqueas terminales y representan, por tanto, filamentos protoplásmicos macizos, homólogos del trofoespongio de las neuronas. Pero en los crustáceos y vertebrados dicho sistema reticular se prolonga con las expansiones ramificadas de ciertas células situadas entre las fibras musculares. Tales células *(trofoespongias)* afectan forma de huso, yacen paralelas á los haces y exhiben dos órdenes de expansiones: unas destinadas á rodear los capilares sanguíneos y á absorber jugos nutritivos, y otras, íntimamente aplicadas á la fibra muscular, cuyo sarcolema barrenan, para constituir las mencionadas redes horizontales. Tales elementos nutritivos serían, sobre todo, evidentes en el músculo cardíaco de los crustáceos y mamíferos.

Nuestras observaciones no nos permiten confirmar la hipótesis de Holmgren. En nuestros preparados, como en los de Veratti y Sánchez, los trabéculos periféricos de las redes intrafasciculares coloreables por el cromato de plata, acaban siempre libremente bajo el sarcolema. Quizás su situación y reparto en la superficie de la fibra se subordinan á la situación de los capilares sanguíneos inmediatos; mas todo vínculo celular directo parece faltar entre el aparato reticular y las redes vasculares.

Sarcosomas.—Hace ya mucho tiempo que Retzius, Kölliker, nosotros, Heidenhain, etc., llamamos la atención sobre la existencia, dentro del sarcoplasma de los músculos de los insectos, de ciertos

granos, ora esferoidales, ora alargados (véase más adelante) y provistos de aletas laterales, que residen entre las fibrillas primitivas. En la figura 254 mostramos el aspecto de tales gránulos en los músculos de las alas del hidrófilo.

Durante los últimos años, Holmgren (1908 á 1913) ha sometido estos granos ó sarcosomas á un estudio escrupuloso, demostrando su naturaleza proteica, sus metamorfosis fisiológicas y su presencia constante en las fibras de vertebrados é invertebrados. Tales granos, que se tiñen intensamente por la hematoxilina ferruginosa, son de dos clases. Los unos, llamados *sarcosomas* J, son sumamente frecuentes, yacen al nivel de la banda clara, á cierta distancia de la línea de Krause; los otros, que llama *sarcosomas* Q, residen al nivel del disco obscuro y son menos comunes. Acerca del papel fisiológico de los sarcosomas trataremos más adelante.

Según Thulin (1909), además de las granulaciones intramusculares, habitarían también, entre los haces de los músculos más activos, ciertas células granulosas especiales *(sarcosomacitos)*, cuyas esférulas, especie de material secretorio coloreable por el método de Benda para las mitocondrias, sería capaz de cruzar el sarcolema para servir de alimento á la fibra muscular. Los sarcosomacitos hallaríanse, no sólo en los insectos, sino también en los mamíferos, donde contraerían especiales conexiones con los capilares, y, en relación con el estado funcional del músculo, experimentarían cambios importantes.

Unión de las fibras musculares y tendinosas. — Los haces musculares se terminan por cabos redondeados y adelgazados cubiertos por el sarcolema é implantados en los extremos de fascículos tendinosos; á veces el cabo muscular se muestra ramificado é inserto en el tejido conectivo dermoideo (músculos de la lengua).

Cada haz tendinoso recibe la inserción de una fibra muscular, uniéndose (á beneficio de un cemento sólido soluble en la potasa) la superficie del sarcolema con los cabos terminales de las fibras conjuntivas. Pero más á menudo los manojos tendinosos reciben haces musculares, no sólo por sus extremos, sino por sus lados, de manera que un solo fascículo conectivo secundario transmite la energía de muchas fibras contráctiles.

En la figura 246 presentamos el modo común de esta unión cuando se efectúa entre el cabo de una fibra y el manojo conectivo correspondiente. Adviértese en el punto de enlace la presencia del sarcolema y de una materia finamente granulosa des-

tinada á encolar dicha membrana con los extremos de las hebras colágenas.

En estos últimos años, O. Schültze (1912) y Longinow (1912) han tratado de probar que cada hebra colágena se continúa con una miofibrilla; pero este aventurado dictamen, basado en una técnica insuficiente, ha sido refutado por Herwerden (1913), corroborando una vez más el hecho clásico de la inserción de las fibras colágenas en la superficie exterior del sarcolema, en torno del cual caminarían á ve-

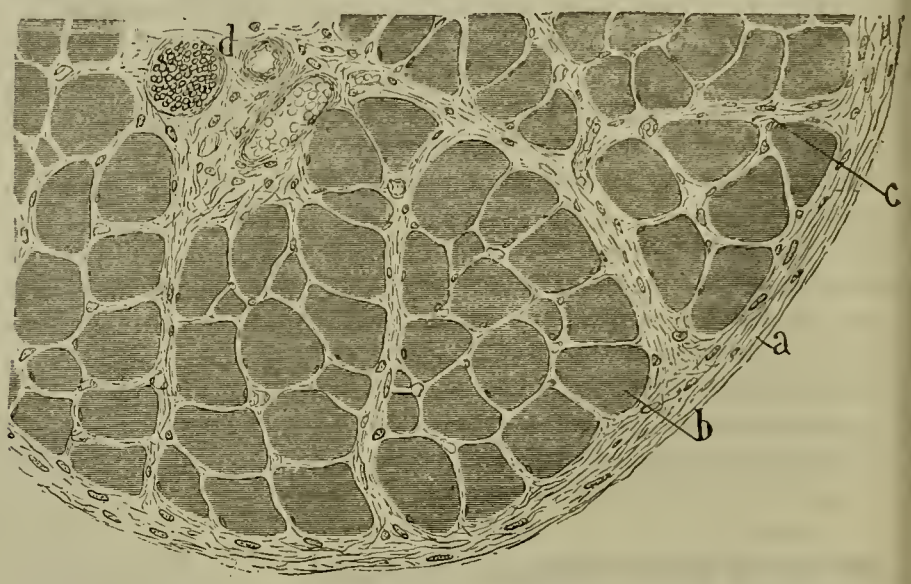

Fig. 245. — Corte transversal de un músculo de mamífero. — *a*, cubierta conjuntiva ó perimisio externo; *b*, fibra muscular; *c*, tabiques que separan los fascículos secundarios; *d*, corte de un nervio y de los vasos nutricios del músculo.

ces cierto trecho envolviendo el cabo de la fibra contráctil como un cáliz fibrilar. Mediante la digestión con la tripsina, operación que destruye la materia estriada, pero respetando el sarcolema y los haces tendinosos, Herwerden no ha visto jamás una fibra conectiva dentro de la cámara sarcolemática. Disposiciones semejantes habían sido ya reproducidas por Schiefferdecker.

Asociación de las fibras musculares. — El haz muscular primitivo ó fibra muscular se asocia con otros á favor de un tejido conectivo laxo poco abundante (fig. 245), que alberga una red capilar muy tupida y dispuesta en mallas cuadrilongas. Los capilares son tortuosos, á veces helicoides, para adaptarse fácilmente á los estados de retracción y relajación del músculo. Los mano-

jos resultantes de la asociación de las fibras musculares están individualizados por tabiques conjuntivos espesos y toman el nombre de *fascículos secundarios*. De la integración de los fascículos secundarios en otras unidades mayores, limitadas por septos conectivos todavía más espesos y no pocas veces infiltrados por tejido adiposo, resultan unos manojos voluminosos, visibles á la simple vista y calificados de *haces terciarios*.

Y, finalmente, el músculo entero está revestido por una fuerte membrana aponeurótica *(perimisio externo)*.

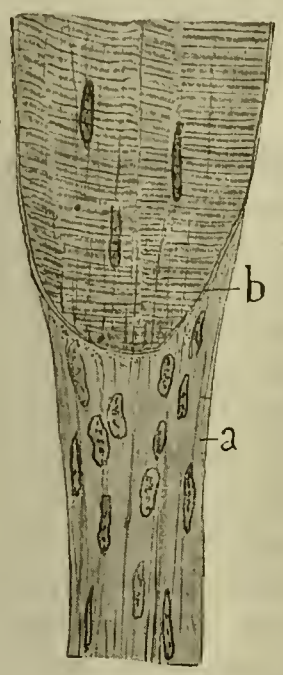

Fig. 246.— Unión de una fibra muscular con un fascículo tendinoso. — *a*, hacecillos colágenos; *b*, sarcolema.

El tejido conectivo intramuscular ha sido estudiado escrupulosamente por Schiefferdecker en una serie de trabajos consagrados al análisis de los músculos (1909 á 1913). Con relación á la fina trama intersticial, separa dicho sabio dos urdimbres: una compuesta de haces colágenos relativamente gruesos coloreables por el método de Calleja (el tricrómico con carmín) y modelada en septos separatorios de grupos de fibras musculares *(trama de sostén)*; otra mucho más delicada, que rodea individualmente cada fibra, integrada por haces refractarios al carmín de índigo, pero bien tingibles con el nitrato de plata. Puesto que esta reticulación argentófila acompaña á los finos capilares del músculo, justifícase la designación dada por Schiefferdecker de *retículo nutritivo*. Acerca de las propiedades de semejante red pericelular han dado detalles interesantes Anastasiu y Dragoin (1911), quienes en la urdimbre nutritiva de Schiefferdecker diferencian todavía dos capas: *exterior*, formada por haces colágenos, é *interior*, representada por redes elásticas finísimas, en gran parte transversales. En nuestros preparados del formol-urano, donde el retículo nutritivo se tiñe bien, nos ha parecido que todos sus trabéculos gruesos y finos son de *reticulina*, es decir, de ese material específico ajeno á las fibras elásticas, admitido por diversos autores en la trama de los lóbulos hepáticos, bazo, mucosa intestinal, etc.

CAPÍTULO XIX

CONTINUACIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR

Variedad estriada del corazón. — Pertenece el tejido muscular de esta víscera al tipo estriado y de contracción brusca, pero ofrece algunas particularidades que conviene hacer notar.

En primer lugar, las fibras musculares cardíacas son ramificadas y anastomosadas, y cada haz primitivo, en vez de estar representado por un solo elemento, consta en realidad ó parece constar de varias células musculares superpuestas. La superficie de contacto de los corpúsculos constitutivos de un haz es plana y se halla á menudo cortada en escalones; la unión de estas superficies tiene lugar á favor de un cemento sólido ó pieza intercalar (*disco intercalar* de Heidenhain), coloreable en violado por el *Blauschwarz B* y soluble en la potasa (fig. 247, *a*). Esta substancia, sobre cuya significación se discute mucho actualmente, dispónese en placas escalariformes separadas por planos verticales desprovistos de cemento y al nivel de los cuales la materia estriada de un corpúsculo parece continuada con la del otro (fig. 250, *b*).

Sin embargo, como ha mostrado Heidenhain, á veces los discos intercalares yacen próximos (fig. 247).

Consta la fibra cardíaca de sarcolema, núcleo y materia estriada. El *sarcolema* descubierto por nosotros (1) y confirmado por Hoche, Ebner, etc., bien teñido por Heidenhain con ayuda de un método especial, es finísimo, se dispone también en festo-

(1) *Cajal:* Textura de la fibra muscular del corazón. *Revista trimestral de Histología normal y patológica*, núm. 1, 1888. Véase también nuestro trabajo: Observations sur la texture des fibres musculaires des pattes et des ailes des insectes (avec 4 planches). *Intern. Monatschrift f. Anat. u. Physiologie,* 1888, Bd. V.

nes, como en las fibras musculares comunes, y no se interrumpe, como creemos haber demostrado, al nivel de las suturas ó contactos intercelulares. Según Heidenhain, muchas fibras presentan hendiduras ó bolsas revestidas por prolongaciones del sarcolema (*Zwichensarcolema*) y desprovistas de refuerzos conectivos. A nuestro juicio, tales espacios dan la vuelta á las fibras y corresponden á superficies vecinas, excepcionalmente cortas, de brazos musculares anastomosados. El *núcleo* es único,

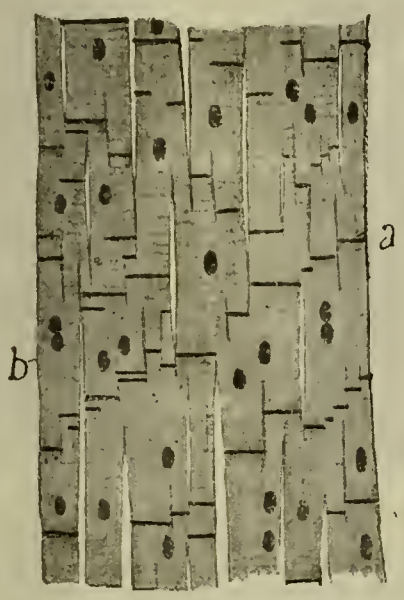

Fig. 247. — Esquema de Heidenhain acerca de la disposición del cemento intercalar de las células cardíacas. — *a*, discos intercalares; *b*, segmento celular.

ovoideo, voluminoso, y está alojado en el centro de la fibra. En algunos animales (cerdo, ratón, etc.), el eje protoplásmico de la célula puede contener dos ó más núcleos, conforme nota Werner (1910). Finalmente, el *material estriado* exhibe las mismas bandas que el fascículo muscular ordinario, sin otra diferencia que el ser éstas más finas y difíciles de discernir. El disco ó placa intercalar que enlaza dos corpúsculos musculares vecinos, ocupa precisamente el lugar de una línea de Krause, y, como ésta, viene á insertarse en un repliegue sarcolemático (fig. 250). A veces, según aparece en los dibujos de Heidenhain, dicho dis-

co ocupa el espesor de un *kommata* (1), abarcando, por tanto, el intervalo de dos rayas de Krause; en vez, pues, de recibir la inserción de un festón sarcolemático, recibe la de dos, que encuadran sus límites superior é interior.

El disco intercalar ó cemento de los autores antiguos aparece con ciertos métodos, descomponible en bastoncitos longitudinales, según probaron hace tiempo Browicz, Przewosky, Mac-Ca-

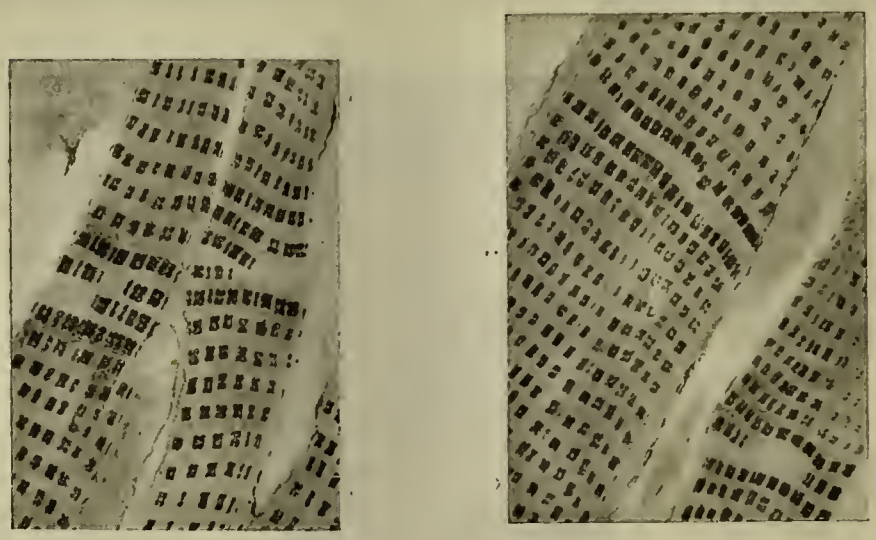

Fig. 248. — Aspecto del cemento ó disco intercalar de Heidenhain en los preparados del tanino y plata amoniacal. (Tomado de Achúcarro y Calandre). Nótese que el cemento no se colora, mientras que los discos bi-refringentes, singularmente los inmediatos á aquél, se impregnan vigorosamente (fibras musculares cardíacas del hombre).

llum, Hoche, Ebner, y, sobre todo, M. Heidenhain. No obstante, fuera grave error identificar el material químico de que consta con el de los *komatas* (bandas obscuras y claras), dado que presentan apetencias tintóreas especiales. Dejamos dicho ya que por los métodos de Heidenhain (coloración en *Blauschwarz B*, en *hematoxilina al vanadio* ó en *azul toluidina con thiazinroth,* previa fijación en sublimado), coloréase dicho disco con matices de morado intenso, en ocasión en que los discos bi-refrin-

(1) *Inokommata*, ó más brevemente *kommata* (de ἰνός fibra τὸ κόμμα miembro de un período), voces introducidas en la nomenclatura muscular por M. Heidenhain, expresan el intervalo de dos rayas de Krause ó líneas Z.

gentes no se tiñen ó se impregnan débilmente; nuestro método del oro sublimado, que impregna la raya obscura (raya Q) los hace destacar por claro (Calandre) de igual modo que el proceder de Achúcarro, según patentiza la figura 248; en fin, en presencia de la hematoxilina de Böhmer ó de la ferruginosa permanecen indiferentes.

En los vertebrados inferiores, la figura de las fibras cardíacas recuerda mucho la de las fibro-células, pues afecta la de un huso, abultado en el centro, para albergar el núcleo, y apuntado en las extremidades, que carecen de las placas escalariformes y al parecer de la continuidad longitudinal, parcial, de los elementos cardíacos de los mamíferos. Las estriaciones son muy aparentes. En el cavia, Luna ha descrito el aparato de Golgi (1911), formado por cordones y granos, emplazados de preferencia en el eje protoplásmico, cerca de los polos del núcleo.

Durante el último decenio ha variado notablemente el concepto del corpúsculo cardíaco á consecuencia de las investigaciones de Browicz (1893), Przewosky (1893), Mac-Callum (1897), Hoche (1897), y, sobre todo, de Ebner (1900), Heidenhain (1901), Marceau (1902) y Holmgren (1908) referentes á la constitución y significación de las líneas de cemento ó discos intercalares solubles en la potasa.

Del conjunto de estos trabajos resulta que las células cardíacas no son corpúsculos independientes, sino que constituyen una red continua, un verdadero *syncytium*, pasando las fibrillas musculares ó primitivas de un corpúsculo á otro y continuándose (si hemos de creer á Ebner), á través del músculo cardíaco, desde los orificios auriculo-ventriculares hasta los tendoncitos de las columnas carnosas de los ventrículos. Verdaderos cabos terminales de las fibras sólo existirían en los vértices de las columnas cardíacas libres ó en los puntos de inserción de aquéllas en los agujeros auriculo-ventriculares (Marceau).

Semejante concepción descansa en tres hechos, hace tiempo descubiertos por nosotros (1888) é inconscientemente confirmados después por los mencionados autores (ya que ninguno cita nuestra Memoria, anterior nada menos que en trece años á la fundamental de Ebner). Estos hechos son: *a*) interrupción del cemento intersticial de escalón á escalón, con lo que se establece continuación lateral entre el sarcoplasma de las células en contacto; *b*) situación del mismo al nivel de una línea de Krause, de la cual representa simple modificación; *c*) en fin, posición constantemente intracelular de dichos discos de ce-

mento, por insertarse exteriormente debajo del sarcolema, precisamente en el ángulo de un festón.

A estas observaciones nuestras, añaden las modernas investigaciones el dato importante de que el cemento en cuestión no es homogéneo, ni recibe simplemente por sus caras, según suponíamos nosotros, la inserción de las fibrillas primitivas é hilos preexistentes, sino que se compone también de bastoncitos íntimamente yuxtapuestos y en continuación con las fibras ó cilindros primitivos. Heidenhain cita además la frecuente presencia de líneas de cemento ó piezas intercalares dentro del supuesto territorio celular (fig. 247), las cuales no pueden, naturalmente, corresponder á las fronteras de un elemento.

Sobre la significación de los referidos discos solubles en la potasa,

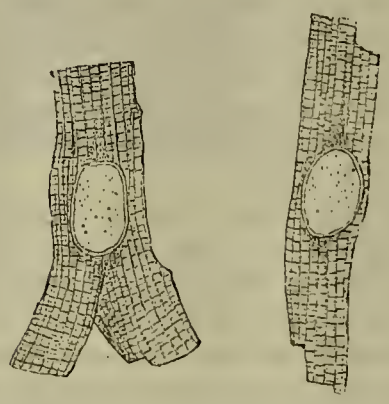

Fig. 249. — Fibras musculares del corazón del conejo. Disociación de la potasa al 40 por 100.

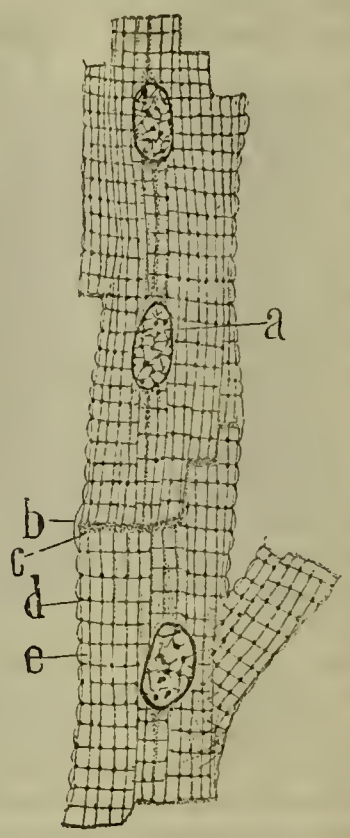

Fig. 250. — Dos fibras musculares del corazón de la vaca, teñidas por el cloruro de oro.—*a*, núcleo; *b*, sarcolema que pasa de una fibra á otra; *c*, cemento de unión; *d*, línea de Krause; *e*, fibrilla primitiva.

las opiniones están muy divididas. Heidenhain supone que son algo así como reservas de materia á los fines del crecimiento de las fibras; Marceau les atribuye la misión de fijar sólidamente la unión transversal de los corpúsculos musculares; Jordan, Steele, Bardin (1913), las relacionan con la contracción rítmica del corazón, suponiéndolas tanto más próximas cuanto más acelerado el ritmo; mientras que para Ebner no representarían otra cosa que espesamientos accidentales de

las bandas de Krause, producidos por las contracciones anormales de la agonía; paradójica opinión no compartida por nadie y que pugna contra el hecho indiscutible de poseer el citado disco de cemento, composición química especial muy diferente de los discos ordinarios.

La doctrina del *syncytium* cardíaco ha sido también apoyada en el terreno embrionario por Godlewski (1901) y Marceau (1903), Duesberg (1909), quienes al explorar la evolución ontogénica de las fibras cardíacas, no han podido reconocer entre ellas fronteras separatorias. En efecto, los discos de cemento ó piezas intercalares faltan en los embriones, apareciendo solamente en épocas tardías.

Sin embargo, en estos últimos años se han producido argumentos que parecen reverdecer la vieja concepción pluricelular de la fibra cardíaca. Zimermann y sus discípulas Carolina Werner é Irene Paleczowska (1910) insisten sobre el papel de frontera intercorpuscular desempeñado por el disco intercalar ó escalariforme; admiten el replegamiento del sarcolema por debajo de éste, y, en fin, parecen refutar el argumento cardinal de Heidenhain, á saber: la existencia de discos de cemento próximos y paralelos. Para los sabios berneses, dicha disposición explicaríase sencillamente, imaginando la intercalación, entre dos células sucesivas, de una expansión cuadrilonga partida en ángulo recto del soma de un corpúsculo emplazado en plano más profundo y, por tanto, no incluído en el espesor del corte examinado. A tal propósito aportan las discípulas de Zimermann observaciones y dibujan esquemas muy impresionantes.

Por otra parte, los estudios de Calandre y Achúcarro (1913) corroboran la opinión de que el disco intercalar posee composición química especial, completamente diferente de la de los discos obscuros de las neurofibrillas (método del tanino y plata amoniacal de Achúcarro).

En cambio, recientemente (1914) hemos obtenido en el conejo de pocos días, por el método del sublimado-oro, cortes donde las miofibrillas parecían continuarse á lo largo de las fibras cardíacas, recordando por completo los dibujos de Marceau. En ciertos parajes, tales fibras exhiben espesamientos ó nódulos no concordantes que recuerdan los descritos por Heidenhain en las miofibrillas de las fibras lisas.

La cuestión, pues, se complica, y fuera aventurado decidirse, hoy por hoy, considerando solamente los hechos positivos de la morfología adulta de la célula cardíaca. A nuestro juicio, la solución será aportada por las investigaciones embriológicas y filogénicas. Si estas pesquisas (que van á emprenderse en nuestro Laboratorio) fundamentaran indiscutiblemente en el embrión la existencia de territorios celulares bien acusados, la antigua y la nueva doctrina podrían fácilmente conciliarse. Todo se reduciría á suponer que, al nivel de los puntos de articulación celular, las miofibrillas, creciendo á través del cemento, habríanse puesto en comunicación con sus homónimas

del corpúsculo muscular vecino, creándose un segmento extracelular, especie de pieza de soldadura, comparable en principio con la porción extracelular de los filamentos unitivos del cuerpo de Malpigio de la piel. Si, por lo contrario, las citadas exploraciones establecen irreprochablemente la continuidad inicial de las miofibrillas de muchos territorios nucleares, fuerza sería aceptar la concepción *syncytial,* con la reserva, empero, de que los discos intercalares, si no corresponden á fronteras celulares propiamente dichas, marcan al menos los límites de influencia trófica del aparato nuclear. En ambos supuestos queda implicada la continuidad anatómica celular (pri-

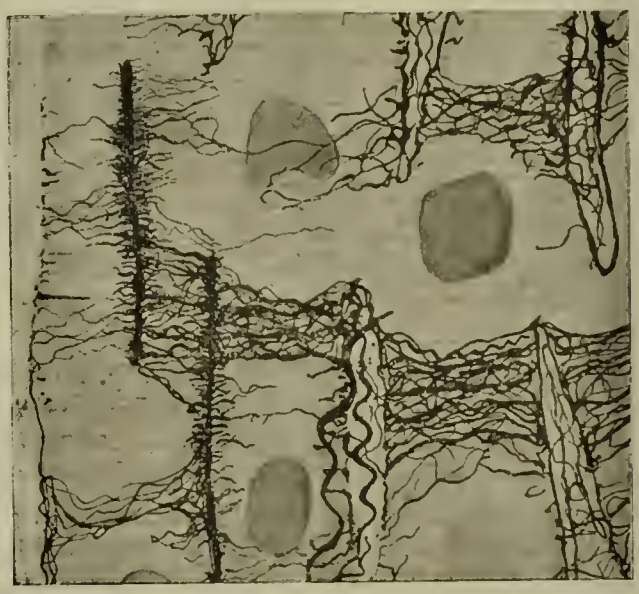

Fig. 251. — Tejido conectivo del corazón humano. Método de Achúcarro (en caliente). Zeiss, Im. 1,30 oc. comp. 12 (según Achúcarro y Calandre).

mitiva ó secundaria), base objetiva suficiente en todo caso para explicar la simultaneidad ó la rápida propagación de la onda contráctil en el músculo cardíaco, por si se estima que tal cualidad fisiológica no queda suficientemente garantida con la difusión y riqueza de las arborizaciones nerviosas (una fibra nerviosa toca sobre muchos territorios cardíacos á la vez).

Retículo conectivo pericelular. — Diversos autores, singularmente Neuber (1912), han descrito entre las células cardíacas una trama conectiva intersticial delicadísima cuyos hilos se dispondrían irregularmente. Gracias al poder selectivo del método del tanino y plata amoniacal, Achúcarro y Calandre (1913) han

logrado revelar completamente esta urdimbre, demostrando que consta de dos clases de elementos: haces espiroides longitudinales, relativamente espesos, y numerosas y sutiles hebras, transversales en gran parte, paralelas entre sí y aplicadas íntima y regularmente sobre el sarcolema, de preferencia al nivel de los surcos ó partes profundas de sus festones. En la figura 251 mostramos un dibujo de Achúcarro y Calandre, donde se aprecia, entre otros detalles, que muchos trabéculos son paralelos á las líneas de Krause y que además penetran también en las hendiduras ó fondos de saco revestidos por el sarcolema (*intersarcolema* de Heidenhain).

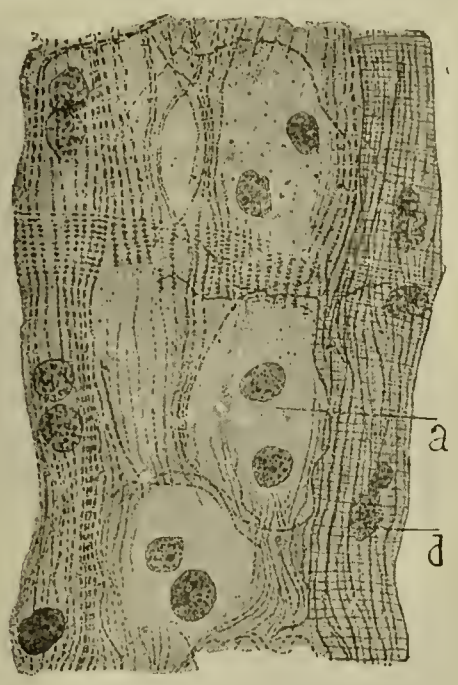

Fig. 252. — Células de Purkinje del corazón, según Marceau. (Embrión de carnero de 55 centímetros).

Células de Purkinje. — Debajo del endocardio de ciertos mamíferos (cordero, vaca, cabra, etc.) existe una red de fibras translúcidas cuyas mallas presentan una forma y dimensión muy variable. Vista al microscopio, cada una de estas fibras ó cintas aparece construída de una ó más hileras de células poliédricas yuxtapuestas y tan íntimamente unidas como las constitutivas de los epitelios. Semejantes elementos, llamados *células de Purkinje,* suelen encerrar dos núcleos alargados de exigua talla y un protoplasma abundante y granuloso, rodeado por una zona más ó menos espesa de materia estriada. Examinando los puntos de enlace de la referida red celular con las fibras cardíacas ordinarias, se advierten transiciones entre ambas especies de elementos, esto es, fibras cuyas células se alargan, mostrando de cada vez más recia corteza de material estriado hasta afectar los caracteres morfológicos de los corpúsculos cardíacos comunes ó adultos (fig.252).

Según Ranvier, las células de Purkinje representan elementos cardíacos en vías de evolución y retardados en su desarrollo. A la ma-

nera de las fibras estriadas comunes, según luego veremos, el material diferenciado se iniciaría en la periferia, ganando progresivamente terreno hacia el centro, donde permanece el núcleo con un resto de protoplasma indiferenciado.

Marceau (1902), que ha consagrado hace unos años un buen análisis á las células de Purkinje, hace notar que tales elementos carecen de sarcolema y que las cortezas estriadas que los envuelven pasan sin interrupción de un corpúsculo á otro, borrándose completamente sus fronteras. En la figura 252, que tomamos de la Memoria de este autor, aparece claramente esta disposición, idéntica, por otra parte, á la demostrada por nosotros y v. Ebner en las fibras cardíacas ordinarias.

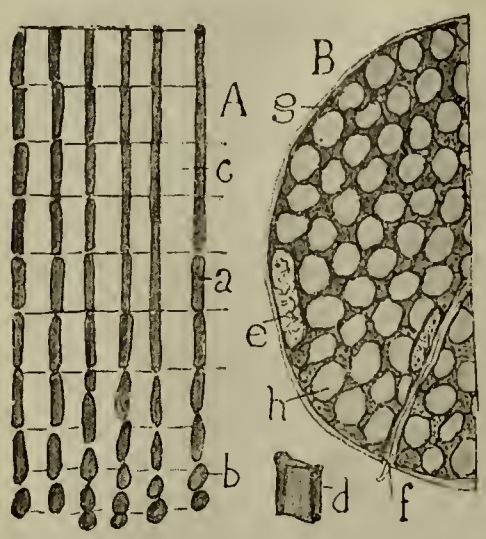

Fig. 253. — Fibras musculares de las alas de la mosca común. Examen en preparaciones impregnadas por el oro. — A, trozo de haz visto á lo largo, con sus piezas intersticiales aurófilas (*a, b*); B, trozo de fibra vista de través mostrando las piezas intercalares aurófilas (*g*), los huecos ocupados por los cilindros primitivos (*h*) y tabiques portadores de tráqueas (*f*); *d*, pieza intercalar aislada (*sarcosomas colosales* de Holmgren).

Fibra estriada de los invertebrados. — Hasta aquí nos hemos referido principalmente á la fibra estriada de los vertebrados, y sobre todo á la de las patas de los insectos, que coincide estructuralmente con la célula muscular de los mamíferos. Pero existen, dentro del tipo general que dejamos descrito, algunas modalidades.

a) *Fibras estriadas de las alas de los insectos.* — Hemos aludido ya á la gran facilidad con que estos haces musculares se disocian hasta en el estado fresco, y al considerable tamaño de los cilindros primitivos, los cuales se prestan admirablemente al análisis de los discos de substancia mono y bi-refringente.

Examinados estos fascículos musculares en los cortes transversales, afectan talla colosal y forma irregular, como lobulada. Un fino sarcolema los envuelve, y de la superficie parten tabiques protoplásmicos que segmentan el haz en grandes compartimientos y conducen tráqueas ramificadas. Los núcleos son numerosos y se hallan tanto bajo el sarcolema como en diferentes puntos de los tabiques protoplásmicos.

Explorando con un buen apocromático los grandes espacios limitados por los referidos tabiques, vénse dos clases de campos: unos claros, extensos, redondeados (fig. 253, *h*), correspondientes á los cilindros primitivos cortados de través; y otros obscuros, esquinados, pertenecientes al sarcoplasma y fibrillas preexistentes (*g*). Pero á diferencia de la variedad muscular común, aquí estas fibrillas no se muestran como hebras tenues provistas de finos granos aurófilos, sino, según descubrimos nosotros, á la manera de prismas intercalares construídos de piezas superpuestas y provistas de aletas, mediante las cuales se ponen en contacto con las aristas de los prismas inmediatos.

Semejantes piezas prismáticas coloréanse intensamente por el cloruro de oro y son tan alterables, que ya en estado fresco, durante las maniobras de disociación, se transforman rápidamente en granos esferoidales é incoherentes. Semejantes metamorfosis se inician por los cabos traumatizados de los manojos (fig. 253, *b*). Tales esférulas corresponden á los *sarcosomas colosales* de Holmgren.

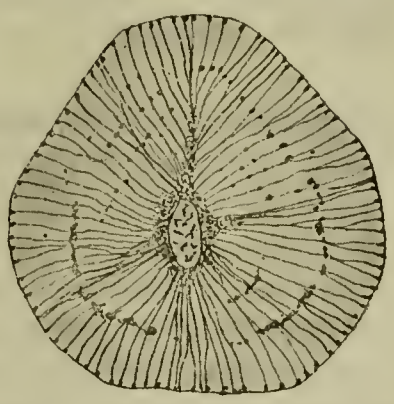

Fig. 254. — Corte transversal de una fibra muscular de las patas de la mosca *(Calliphora vomitoria)* (impregnación por el cloruro de oro).

Fibras musculares de núcleo central. — En diversos insectos (fibra de las patas del *Dytiscus,* de la avispa, mosca, etc.), los músculos de las alas exhiben dimensiones mucho más reducidas y se caracterizan por constar de un eje protoplásmico central, donde residen los núcleos (fig. 254), y de un sistema de tabiques sarcoplasmáticos radiados, que van desde el referido eje al sarcolema. Semejantes tabiques contienen, al nivel de las membranas de Krause, unos finísimos hilos divergentes apenas ramificados, que sostienen las correspondientes hebras preexistentes, poco numerosas. En algunos insectos (fig. 254) muéstranse concéntricamente ordenadas ciertas granulaciones, compuestas, al parecer, de protoplasma indiferenciado. En fin, las miofibrillas situadas en los espacios lineales divergentes afectan forma laminar, en vez de la cilíndrica común, según hacen notar Holmgren (1908) y Thulin (1911).

Modernamente (1913) Holmgren, sobre la base de la posición y demás propiedades de los sarcosomas, ha formulado una clasificación de las variedades de fibra muscular estriada. Según el histólogo de

Stockholmo, todas las fibras contráctiles estriadas agrúpanse en uno de estos tres géneros: A. *Fibras provistas de granos Q* (recio grano emplazado al nivel del disco obscuro). A ellas pertenecen las fibras de las alas de la libélula, las cardíacas de crusláceos y vertebrados y las integrantes de los músculos del ala del murciélago. B. *Fibras con granos J* (situados al nivel de la raya clara ó banda J). Hállanse en los músculos del esqueleto, tanto de invertebrados como de vertebrados. Representan, por tanto, el tipo estructural común. C. *Fibras con granos colosales intersticiales,* que rellenan irregularmente los intervalos de las fibras, sin relación fija con los discos, y emiten aletas colaterales. Coinciden con miofibrillas enormes, poseedoras de un disco J mínimo. Encuéntranse en los músculos de las alas de dífteros, himenópteros y coleópteros. Acerca de las metamorfosis de sarcosomas y miofibrillas durante la contracción en todas las citadas especies, léanse las Memorias de Holmgren, muy sugestivas y excelentemente ilustradas.

Caracteres químicos del tejido muscular.—El *plasma muscular,* es decir, el líquido que se obtiene del músculo por presión del músculo fresco, es un líquido neutro coagulable (por precipitación de la miosina), rico en materias albuminoides. Entre ellas se cuentan: la *miosina* ó *miosinógeno,* el *paramiosinógeno,* la *mioalbúmina* y la *mioglobulina.*

La *miosina* ó materia del coágulo del *miosuero*, es una globulina coagulable á 56°, insoluble en agua, soluble en los líquidos salinos y particularmente en las soluciones de cloruro de sodio ó de cloruro amónico al 10 por 100; una solución saturada de sulfato de magnesia la precipita. Aun cuando no es cosa probada, créese que, al modo de la fibrina, la miosina hállase en el vivo representada por una substancia especial disuelta, el *miosinógeno,* que, en presencia de un fermento particular, pasaría al estado sólido generando el fenómeno, bien conocido, de la *rigidez cadavérica.* El fermento de la fibrinógena carece de acción sobre el *miosinógeno.*

El *paramiosinógeno* ó *musculina* es otra de las substancias albuminoides constitutivas del coágulo muscular. Distínguese del miosinógeno en que coagula á 47°.

La *mioalbúmina* es una materia soluble en agua y soluciones salinas débiles, pero precipitable por saturación del suero san-

guíneo con sulfato de magnesia adicionado de un ácido; es imprecipitable por el cloruro de sodio y por diálisis.

La *mioglobulina* coagula á 63° y es soluble en las soluciones salinas neutras diluídas, pero precipita por el sulfato de magnesia saturado en frío, así como por la diálisis y la simple dilución.

Reconócese en la *hemoglobina* la materia colorante principal del músculo, cuyo color rojo se conserva aun después del lavado sanguíneo. Pero, aunque en menos cantidad, contiene también la fibra muscular otro principio colorante, la *miohemoglobina,* caracterizada por ofrecer un espectro de absorción particular. La existencia de esta materia en los insectos donde no existe la hemoglobina, parece refutar la objeción de los fisiólogos, para quienes la miohemoglobina representaría un producto de metamorfosis de la hemoglobina.

El material que resta en las fibras musculares, una vez extraído el jugo muscular y los diversos albuminoides del material estriado, se llama *armazón fibrilar* (*Bundelgerust*), de Danilewski).

En fin, el músculo contiene: *materia glicógena* en proporción del 1 por 1.000 y más; *inosita,* una glicosa insoluble en alcohol y éter, soluble en agua, desprovista de poder rotatorio y reductor y de capacidad fermentatriz; un poco de *azúcar,* creatina y substancias de la serie úrica, etc.

El músculo fatigado, así como el músculo rígido por la coagulación de la miosina, ha perdido su reacción natural neutra y adquirido la reacción ácida, merced á la producción del ácido *sarcoláctico.*

Propiedades fisiológicas del tejido muscular.—La actividad fisiológica para la que el corpúsculo muscular está especialmente diferenciado es la contracción, que se efectúa, bien por estímulo de los nervios motores, bien mediante excitación directa, eléctrica, química ó mecánica, del material estriado. El encogimiento de la fibra tiene lugar solamente en la dirección de su eje, acortando su longitud y aumentando su grueso. Desde los trabajos de Aeby, confirmados por diversos histólogos y fisiólogos, se sabe que la retracción del haz muscular se determina

por espesamientos locales sucesivos, llamados *ondas de contracción* que comienzan al nivel del punto estimulado y se extienden en dirección opuesta hasta las extremidades. Tal es la contracción que se observa en los fascículos musculares aislados y examinados al microscopio; mas cuando se estimula el nervio que se distribuye por el músculo, en vez de una se producen infinidad de ondas de contracción, tan próximas y rápidas, que cada fibra muscular parece contraerse simultáneamente en todas sus partes.

Rollet ha tratado de averiguar la longitud y rapidez de propagación de la onda muscular en diversas especies animales. De sus pacientes pesquisas resulta que la longitud y velocidad de la onda son mayores en los animales de sangre caliente que en los de sangre fría, y en los vertebrados que en los invertebrados.

Por ejemplo: en el conejo (músculo crural) mide la longitud de onda 261 á 361 milímetros y la velocidad 1.500 á 3.400 milímetros por segundo. La longitud sería, pues, más grande que el músculo y ello puede explicar la aparente simultaneidad de la contracción. En la rana decrecen velocidad y longitud, alcanzando ésta de 0'198 á 0'380 milímetros. Aquí, pues, la onda es más pequeña que el músculo. En fin, en el hidrófilo la longitud ondulatoria desciende á 0'08 ó 0'169 milímetros (comprendiendo sólo 12 á 24 iconomatas) y la velocidad de 0'8 á 0'67. Por lo demás, estas cifras varían para cada autor (véanse las estimaciones de Hurthle).

Las precedentes valoraciones han sugerido á Rollet una idea ingeniosa. A su juicio, en los batracios é invertebrados la escasa longitud de la onda (inferior á la de la fibra) sería compensada con la pluralidad de placas motrices. Basta, por tanto, en los mamíferos, una placa por fibra para provocar, dado lo enorme de la onda, la contracción simultánea; mas en la rana y en el hidrófilo la dicha simultaneidad sólo se consigue mediante la acción isócrona de muchas placas motrices. De donde infiere lógicamente Heidenhain que cuanto más rica es la inervación de un músculo menos perfecta organización nos ofrece. La unidad de la placa motriz del hombre y de los mamíferos constituye, pues, exquisita perfección relacionada con la magnitud y velocidad excepcionales de la onda contráctil.

Los cambios que el microscopio permite reconocer en la materia estriada durante el paso de la onda, se han estudiado atentamente en las fibras musculares de las patas de los insectos; por desgracia, la observación de estas mutaciones es tan difícil,

tan ardua su interpretación racional, que apenas hay dos autores que describan los mismos hechos, ó que describiéndolos les otorguen igual valor.

En general, cada autor ha visto en la materia estriada en contracción, el mecanismo fisiológico á que le obligaba su concepción *à priori* de la textura de la fibra muscular.

Examen de la fibra viva. — Dos hechos se reconocen con cierta claridad en las fibras vivas de los insectos: 1.° Al paso de la onda, las líneas de Krause se aproximan y adelgazan, y el sarcolema se presenta plegado en rizos transversales. 2.° El disco claro ó substancia isótropa se estrecha y acaba por desvanecerse, presentándose todo el hueco interpuesto á las líneas de Krause como un disco homogéneo, brillante y notablemente adelgazado *(estado homogéneo* de ciertos autores).

Examen de la fibra fijada y teñida en diversas fases de la contracción. — Variados son los pareceres de los sabios acerca de este punto. Semejante diversidad, imputable á las diferentes y no siempre adecuadas técnicas empleadas, tiende hoy á desaparecer gracias á los recientes trabajos de Schäfer, Holmgren, Duesberg, M. Heidenhain, Thulin (1913), Hurthle (1912), etcétera, basados en las revelaciones del método de Benda ó el de la hematoxilina ferruginosa. Los resultados esenciales de tales investigaciones se resumen en las proposiciones siguientes:

a) En el estado de relajación ó reposo, las dos bandas, obscura y clara, diferéncianse perfectamente, tiñéndose la anisotropa intensamente por la hematoxilina (método de Heidenhain). La banda de Krause, perfectamente marcada, afecta bastante delgadez (fig. 255, A), y el disco claro ó raya J exhibe relativa longitud. En pleno sarcoplasma, al nivel de la raya J y á cierta distancia de la de Krause, destacan los *sarcosomas J* de Holmgren, intensamente teñidos (fig. 255), los cuales corresponden á las esférulas interfibrilares hace tiempo señaladas por Retzius y Kölliker y erróneamente tomadas por Rollet como discos de las miofibrillas *(discos accesorios* de Rollet).

b) Al iniciarse la contracción (fig. 256, I), la colorabilidad de la banda obscura disminuye, singularmente en su centro; los discos claros se angostan (*raya J*), al paso que los sarcosomas si-

tuados enfrente de ella se espesan y dislocan caminando hacia la línea de Krause, con la que se ponen en contacto (fig. 255, B). Como si la materia cromófila que contienen se pasara á este último disco, adquiere éste intensa coloración y demasiado espesor. (Véase la fig. 256, tomada de Schäfer). En fin, la distancia entre las rayas de Krause disminuye y el sarcolema inicia sus festones.

c) Llegado el estado de máxima contracción (figs. 255, C, y

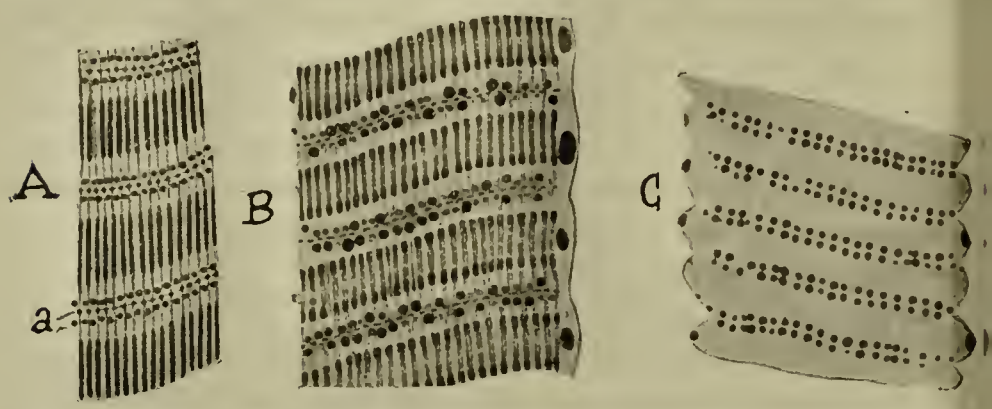

Fig. 255. — Fases de la contracción de la fibra muscular del *Dysticus marginalis* (músculos del dermato-esqueleto). — A, estado de reposo ó relajación; B, comienzo de la contracción; C, fase de máxima contracción; *a*, raya de Krause (coloración por la hematoxilina ferruginosa).

256, C), exagérase el plegamiento transversal del sarcolema y la dilatación de la fibra muscular. Acentúase además la incolorabilidad de la banda obscura (*disco Q*), que ya no hace contraste ninguno con la clara. A consecuencia de la aproximación de los sarcosomas J con la raya de Krause y del espesamiento de ésta, genérase recia banda coloreable con la hematoxilina (figs. 256, C, y 255, C). Esta fusión aparente de dichos elementos con el *telofragma* ó raya de Krause explica el fenómeno ya señalado por Merkel, Rollet, Engelmann, etc., de la *inversión de la estriación* (fig. 256).

La prueba de que esta inversión es ficticia y extraña á las miofibrillas, procediendo de la aproximación al telofragma de los sarcosomas J, la debemos á Retzius, Schäfer, y sobre todo á Heidenhain (1911), Duesberg (1912) y Holmgren (1909 á 1913). En la figura 255 damos á este respecto un esquema muy expre-

sivo tomado de Holmgren, correspondiente á los músculos de los insectos.

Tocante á los cambios íntimos de tales mutaciones (procesos de hidratación, oxidación, reducción, cambios de tensión superficial, etc.) sobrevenidos en los distintos factores de las miofibrillas, sarcoplasma y telofragma, nada se sabe de positivo. Ni siquiera es dable puntualizar cuáles son las partes activas ó contráctiles de la miofibrilla (disco obscuro?) y cuáles las pasivas ó elásticas (disco claro?).

No faltan ciertamente hipótesis, basadas todas en la concepción textural más grata á cada sabio. Algunas han sido indicadas más atrás. Aquí mentaremos brevemente la de Holmgren (1913), destinada á mostrar el papel fisiológico de los sarcosomas y las curiosas relaciones existentes entre las mutaciones de éstos y las alternativas de colorabilidad de los discos miofibrillares.

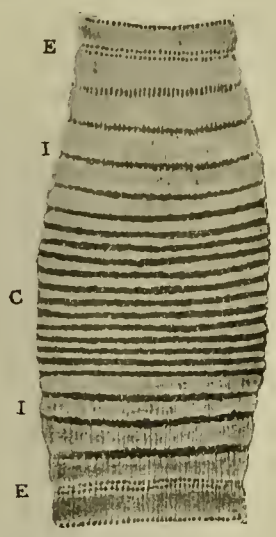

Fig. 256. — Onda de fibra muscular del *Dysticus* (según Schäfer). — E, reposo; I, comienzo de la contracción; C, fase de la máxima contracción.

Dicho sabio distingue en las alas de los insectos (tipo de *granos Q*, alas de la libélula) cuatro fases fisiológicas.

a) *Estadio discrecional* (es decir, de acumulación de energía latente precursora de la contracción). La línea de Krause aparece finísima, apenas aparente El disco Q coloréase enérgicamente por la hematoxilina (método de Heidenhain), distinguiéndose bien del claro. Entre las miofibrillas se perciben los *sarcosomas Q*, ovales, alargados, que abarcan toda la extensión del disco obscuro, débilmente coloreados.

b) *Fase de contracción.* — Raya de Krause recia y enérgicamente coloreable y coincidiendo con el abultamiento de la fibra y el aplastamiento de los discos Q y J. La banda obscura (Q) carece de color. La imagen traduce la *inversión* de la estriación, fenómeno bien conocido de los autores. Parece, pues, según Holmgren, que la materia de los sarcosomas se ha pasado al telofragma, que funcionaría como *cromatóforo,* es decir, como recolector y portador de una substancia energética que sería gastada por el disco obscuro.

c) *Fase de regeneración.*—Suspendida la contracción, regenérase la materia de los sarcosomas Q, que abultan y se tiñen ahora enérgicamente. En cambio, la raya de Krause palidece y parece como atrofiarse. Las miofibrillas se alargan.

d) *Post-regeneración.* — Adelgazamiento notable de las miofibrillas, que palidecen mucho. Intensa colorabilidad de los sarcosomas. La raya de Krause se tiñe, etc.

En suma; la idea central de Holmgren parece ser que los sarcosomas (especie de *protomeras* vivientes de la fibra muscular, correspondientes á las mitocondrias de Duesberg) elaboran un principio dinamógeno, indispensable á la contracción; este material precioso, coloreable por la hematoxilina ferruginosa, es primeramente absorbido por el telofragma, que lo conduce al disco obscuro. Disipado por éste durante la fase de actividad, regenérase inmediatamente en los sarcosomas. Por lo demás, estos cambios han sido observados también por Holmgren en la contracción de la fibra cardíaca y en la común de los vertebrados.

Cambios morfológicos durante la contracción de las fibras musculares lisas. — Ocurre en ocasiones encontrar en preparaciones coloreadas de músculos lisos, espesamientos locales que se consideran como legítimas ondas de contracción conservadas por los reactivos. Un ejemplo interesante aporta Heidenhain (1911) al descubrir, en las miofibrillas elementales de las fibras lisas del intestino de la salamandra, ciertas nudosidades cortas y finas que no corresponden al mismo plano, como si cada hebra se hubiera contraído por su cuenta. No así en las ondas de contracción señaladas por Carolina Mc. Gill en el intestino del Nocturus, donde la onda (zona intensamente coloreada por la hematoxilina) comprende la totalidad de las miofibrillas. La exigüidad de los nudos ú ondas relaciónala Heidenhain con la ley de Rollet, según la cual éstas son tanto más breves cuanto menos diferenciado se halla el corpúsculo muscular.

Génesis del tejido muscular (fig. 259). — Proceden las fibras musculares del mesodermo, iniciándose su evolución en las masas del tejido conectivo embrionario que rodean las proto-vértebras. Según dejamos apuntado más atrás, el mesodermo, una vez constituído, se diferencia en dos masas celulares: una *lateral (mesodermo lateral),* que se divide en las dos hojas mesodérmicas *fibro-cutánea y fibro-intestinal,* y una porción espesada situada cerca de la médula espinal y que toma la designación de *m. paraxial.* Este territorio interno ó *paraxial* se separa sucesivamente del territorio externo ó mesodermo lateral

y acaba por adoptar una disposición segmentaria (fig. 257, *m. s.)*. Cada segmento *(segmentos musculares primitivos)* afecta forma cubóidea y aparece compuesto de una recia pared, formada por células alargadas de aspecto epitelial, y de una cavidad central llena de plasma.

Pronto el segmento crece y se deforma, dando sus paredes origen á diversos tejidos. Así la pared ventral (fig. 257, *s. c.)*

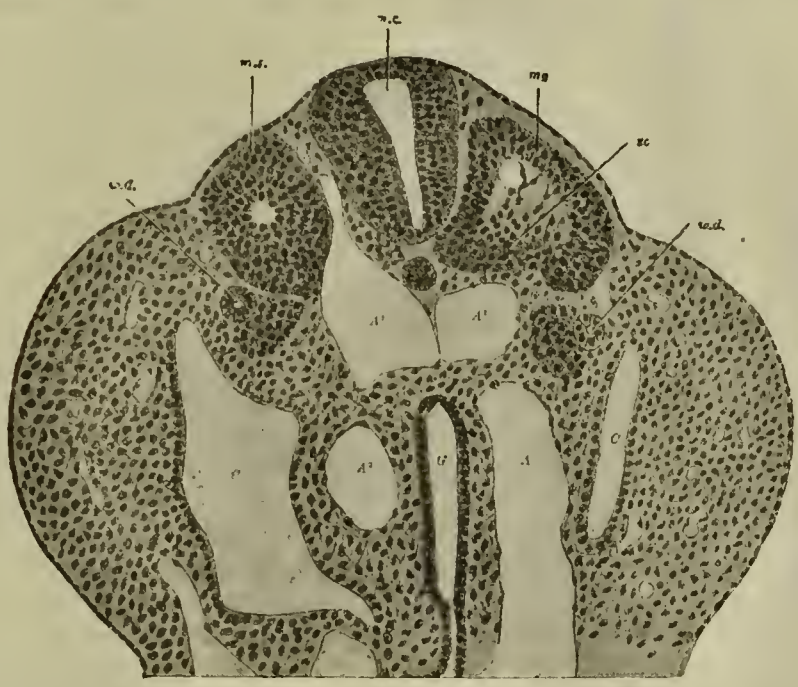

Fig. 257. — Corte transversal del tronco del embrión de conejo del décimo día. El corte es un poco oblicuo (según F. H. Bryce). — *n. c.*, conducto neural; *m. s.*, segmento mesodérmico; *s.c.*, pared ventral de un segmento que comienza á transformarse en esclerotoma; *w. d.*, conductos de Wolff; A¹, las dos aortas primitivas; A², arteria de la alantoides; C, celoma.

cuyas células se ramifican y separan luego por una substancia intersticial, generará el esqueleto, de donde el nombre de *esclerotoma* con que se la conoce. La pared lateral posterior, dispuesta en forma de placa, conservará su aspecto epitelial bastante tiempo (fig. 258, *s. p.)* y producirá el tejido conectivo cutáneo (placa cutánea); en fin, la cavidad desaparecida por el crecimiento y metamorfosis del lado ventral del segmento, será ocupada por una lámina celular clara, paralela á la *placa cutá-*

nea. Ahora bien, esta lámina clara, situada entre la placa cutánea y el esclerotoma, será el germen de todo el tejido muscular voluntario del organismo. Conócenla los embriólogos con la designación de *placa muscular* ó *miotomo* (fig. 258, *m. p.*). Sus elementos, alargados en sentido longitudinal, representan los gérmenes de las futuras células musculares, los *mioblastos* de los autores.

En un principio, el corpúsculo muscular carece de estrías,

Fig. 258. — Corte transversal del tronco de un embrión de conejo del onzavo día (según F. H. Bryce). — *m. p.*, placa muscular; *s. p.*, placa cutánea; *s. c.*, esclerotoma; *w. d.*, conducto de Wolff; A, aorta; C, celoma; UV, venas umbilicales.

y está representado por un elemento cilíndrico, granuloso, provisto de núcleo ovoideo y central (fig. 259, A). Más adelante, el núcleo se multiplica, y la periferia de la célula exhibe una corteza estriada, que va sucesivamente engrosándose: en el eje reside una sarta de núcleos, así como un cordón protoplásmico indiferenciado (D). Esta corteza es ya descomponible en miofibrillas con sus discos característicos. Finalmente, conforme avanza la evolución, la célula se alarga notablemente, el eje protoplásmico se adelgaza hasta desaparecer, y los núcleos, oprimidos en cierto modo por la invasión creciente del material estriado, salen

por ciertas discontinuidades ó ventanas de que éste se halla sembrado, para colocarse definitivamente debajo del sarcolema (fig. 259, D).

El desarrollo del material estriado puede concebirse como un fenómeno de regularización y diferenciación ocurrido en el seno del retículo protoplásmico embrionario: á expensas del líquido de las mallas protoplásmicas, fórmanse quizá los cilindros primitivos, y mediante el crecimiento y regularización del armazón protoplásmico axial se crean los hilos finos longitudinales y redes de las membranas de Krause. El mecanismo íntimo de estas metamorfosis se desconoce en gran parte. Una vez llegada al estado adulto, la fibra muscular represèntará un elemento fijo, insusceptible de multiplicarse (Bizzozero) como las células nerviosas.

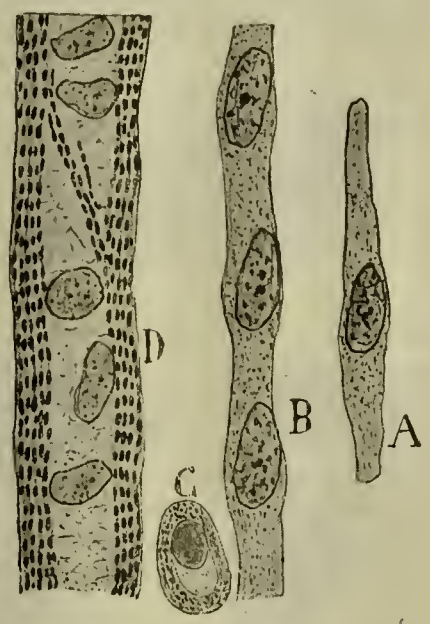

Fig. 259. — Fases evolutivas de la célula muscular de un feto de vaca. — A, célula muy embrionaria de núcleo único; B, célula multinucleada, pero sin estriación; D, célula provista de corteza estriada; C, este mismo elemento cortado de través.

Según Heidenhain (1913), las miofibrillas, una vez iniciadas en la época embrionaria, se multiplicarían por escisión longitudinal. No se trata, pues, durante el crecimiento de la fibra (fig. 260), de un acto renovado de diferenciación, sino de un proceso de proliferación incesante de las miofibrillas primitivas, cuyos descendientes se agregarían en histomeras ó grupos de histomeras de forma y dimensión variada. Además de esta multiplicación por hendimiento longitudinal, ya mencionada hace tiempo por Kölliker, Félix, Minot, etc., y sobre todo por Maurer, produciríase un crecimiento á lo largo, mediante aparición de nuevos komatas, es decir, por multiplicación de los preexistentes al nivel de los extremos del paquete miofibrillar. En la figura 260, tomada de

Heidenhain, se echa de ver cómo, gracias á la división longitudinal, un grupo exiguo de miofibrillas se convierte, dentro del protoplasma del mioblasto, en un haz considerable, que conserva durante cierto tiempo aspecto radiado.

La opinión anteriormente expuesta, según la cual cada mioblasto da origen, por crecimiento longitudinal y diferenciación, á una fibra muscular adulta, no es á la hora actual compartida por todos los histólogos. Diversos autores opinan que la célula muscular definitiva representa un *syncytium* ó plasmodia, producida por la fusión en serie de muchísimos mioblastos. Este dictamen ha sido particularmente sostenido por Marceau (1903) para la fibra cardíaca y por Godlewsky (1902), Duesberg (1909) y Heidenhain para el corpúsculo estriado ordinario ó voluntario.

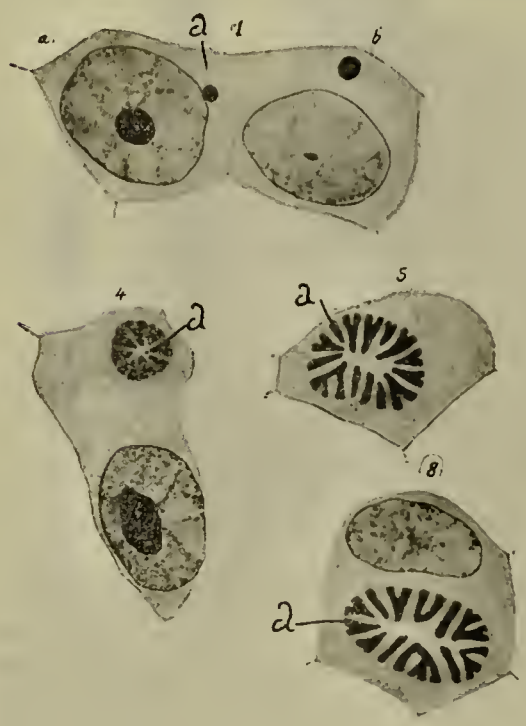

Fig. 260. — Diversas fases del desarrollo de las miofibrillas en el interior de los mioblastos de la larva de trucha. Nótense en 1 *(a* y *b)* las gruesas miofibrillas aparecidas y cómo por división longitudinal generan recios paquetes (4, 5, 8). (Según Heidenhain.)

Sobre el tema especial del origen de las miofibrillas hánse publicado opiniones muy interesantes estos últimos años. Meves (1908), como resultado general de sus estudios acerca de las mitocondrias en el embrión de pollo, afirma que todas las disposiciones fibrilares del protoplasma (neurofibrillas, miofibrillas, etc.), descienden de dichos organitos, los cuales se transforman sucesivamente en fibras de propiedades específicas morfológicas, químicas y fisiológicas. Las miofibrillas no serían, pues, otra cosa que mitocondrias transformadas. A causa de tales metamorfosis químicas, los métodos mitocondriales serían ya incapaces de teñir en el adulto el retículo y las fibrillas de las células musculares, nerviosas, epiteliales, etc.

Esta opinión ha sido confirmada por Duesberg (1909), en lo tocante á las miofibrillas del embrión de pollo, que ha teñido por el método de Benda. Las mitocondrias, cuya forma inicial es esferoidal, se alargan después, generando largas fibrillas sin estrías, es decir, miofibrillas rudimentarias. Pero desde las noventa á cien horas de la incubación, preséntanse las estrías bajo la forma de granos brillantes, que corresponden á las rayas ó estrías de Krause, alternando con largos bastoncitos pálidos constitutivos de la raya ó disco obscuro. En fin, recientemente Luna (1913) explica también la génesis de las miofibrillas á favor del alargamiento y diferenciación en discos de las mitocondrias; una parte del condrioma se mantendría indiferenciada hasta la fase adulta, á fin de producir el aumento de calibre del material estriado.

Preparación del tejido muscular.—a) *Fibras lisas.*—Para estudiar las fibras lisas, pueden utilizarse cuatro procedimientos principales: la disociación, los cortes, la distensión y el método de Ehrlich.

La *disociación* debe efectuarse químicamente. En un tubo de ensayo que contenga ácido nítrico al cuarto, se abandonarán por dos ó más días pedazos de tejido muscular del intestino, vejiga, etc., de un vertebrado. Al cabo de este tiempo, el cemento de unión es destruído y las fibro-células se desprenden y aislan por simple agitación del líquido. La conservación podrá efectuarse en glicerina, previo lavado de la preparación, á fin de purgarla del ácido que contiene. Las preparaciones así obtenidas son muy bellas desde el punto de vista de la disociación, pero se tiñen mal por los reactivos y el núcleo apenas se distingue.

Para obtener elementos cuyos núcleos sean tingibles por el carmín, hematoxilina, etc., convendrá obtener la disociación por el alcohol al tercio, siguiendo el manual operatorio ya descrito con ocasión de la preparación de los epitelios. También la potasa puede aprovecharse como aislador, pero este reactivo es de difícil manejo y todavía altera más profundamente los núcleos que el ácido nítrico.

Los *cortes* se ejecutarán en trozos de esófago, estómago, intestino, etcétera, previa induración en el alcohol y englobamiento en celoidina ó parafina. La coloración se efectuará en hematoxilina ó carmín. La hematoxilina con eosina es un buen reactivo, pues colora en rosa el protoplasma contráctil y en violado los núcleos. También es aplicable el método de Gieson y el de la triple coloración (picro-índigo y fuchina básica).

La *distensión* es particularmente aplicable á membranas transparentes que contienen fibro-células. Supongamos que se trata de la vejiga de la rana: un trozo de este reservorio se extenderá por semidesecación sobre un porta-objetos; luego se lubrificará, durante algunos minutos, por el alcohol absoluto, á fin de fijar sus elementos;

en seguida se hará actuar sobre él por breves instantes una solución colorante.

El *método de Ehrlich* es también útil al estudio de las fibras lisas, suministrando espléndidas preparaciones que tienen la ventaja de mostrar aquellos elementos colorados de azul intenso en medio de otros que no han atraído el color. De esta suerte se forma idea cabal de la morfología de los mismos. El manual operatorio es el del teñido de las fibras nerviosas. Supongamos que deseamos colorar las fibras musculares del intestino del conejo: se comenzará por inyectar en la aorta una solución al $^1/_2$ por 100 de azul de metileno de Ehrlich, se abandonarán al aire por una hora las asas intestinales, y se fijarán en molibdato amónico. Los cortes, obtenidos por endurecimiento en formol, pueden colorarse todavía con carmín de Grenacher (véase, para más detalles, el *método de Ehrlich*, pág. 90).

b) *Fibras musculares estriadas.* — Conviene estudiarlas en el vivo y tratarlas por diferentes reactivos: cloruro de oro, ácidos, álcalis, alcohol, bicromatos, etc., etc.

Examen en vivo. — A este fin son preferibles las fibras de las patas de los insectos (hidrófilo, escarabajo, cucaracha, etc.). Si operamos en el hidrófilo, debemos comenzar por arrancar una pata al animal y recoger el plasma que rezuma de la herida sobre un porta-objetos. Acto continuo se corta, á favor de tijeras finas, un pedazo del paquete muscular que aparece en el muñón, ó un trozo de los músculos interiores de las patas; se traslada la masa viva rápidamente al porta-objetos y se cubre con una laminilla, evitando ejercer sobre las fibras la menor presión. Si la maniobra se ejecuta con destreza, los haces musculares se mostrarán íntegros, sobre todo en sus porciones centrales, y no será difícil encontrar algunos recorridos por ondas de contracción. La observación se realizará de preferencia en los haces atravesados por ondas lentas ó agitados por débiles sacudidas.

Algunos autores, por ejemplo, Hürthle (1909) han empleado el cinematógrafo para tomar instantáneamente las fases de la contracción y realizar la síntesis por proyección.

Cabe asimismo practicar el estudio de la trama viviente del músculo en las fibras cortadas de través, procedimiento utilísimo para apreciar el valor analítico de los ácidos y de todos los agentes que revelan las redes transversales. Para ello no hay más que picar en menudos fragmentos un trozo de músculo todavía palpitante, á favor de un escalpelo bien afilado y sobre el mismo porta-objetos, lubrificado por una gota de plasma. Entre los pequeños trozos que se presentarán al examen una vez cubierta (sin presión) la preparación, hallaremos algunos situados de punta, que mostrarán elegantes reticulaciones transversales, iguales á las reveladas por el oro.

c) *Preparación por los ácidos.* — Estos agentes acentúan la textura preexistente en los haces vivos, al paso que hinchan la materia miósica y determinan á menudo la segmentación en discos. El procedimiento que muchos autores recomiendan es la maceración del tejido vivo por veinticuatro ó más horas, en una solución de ácido clorhídrico al 1 por 1.000 ó por 500. El ácido fórmico al 1 por 100 y aun á mayor concentración (1 por 4), da igual resultado, teniendo la ventaja de actuar más rápidamente.

Pero el procedimiento más elegante para demostrar la trama preexistente de las fibras estriadas, es el de la impregnación áurica asociada á la acción de los ácidos. Los métodos ideados son varios, pero nosotros preferimos, por su gran constancia, el siguiente, casi idéntico al de Lœwit. Trozos de músculo vivo son abandonados por cinco ó diez minutos en una solución de ácido fórmico al cuarto; luego se inmergen en cloruro de oro al 1 por 100, en donde permanecen cuarenta á sesenta minutos, y por último, se maceran en la obscuridad, de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, en ácido fórmico al tercio. Los trozos del músculo adquieren, al cabo de este tiempo, color violeta obscuro, son sumamente friables y se reducen á fragmentos transversales con la mayor facilidad, ya por simple compresión, ya por insistente fragmentación á favor de un escalpelo bien afilado, sobre un porta-objetos. El examen debe efectuarse en agua ó alcohol con un fuerte objetivo de inmersión, sobre todo si se trata de músculos de vertebrados, cuyos músculos son mucho más finos que los de los haces de los insectos. La substancia miósica aparecerá hinchada, incolora, con débil índice de refracción, pudiendo faltar por completo en los parajes más enérgicamente atacados por los ácidos. Sobre este fondo incoloro, en gran parte ocupado por el líquido reactivo, destaca la trama fibrilar del haz teñida en violeta Los cortes transversales presentarán, con gran limpieza, las redes y los campos de Conheim; los longitudinales, los filamentos preexistentes y sus engrosamientos, que son las partes más enérgicamente impregnadas.

d) *Disociación de las fibrillas.*—Ya hemos visto por el texto, que las fibrillas preexistentes sólo son en parte disociables por los ácidos y álcalis y que la acción de los coagulantes las fragmenta, ó por lo menos, las presta una friabilidad que imposibilita aislarlas. Pero no así las fibrillas primitivas, cuya separación es facilísima con ayuda de cualquier agente coagulante: el alcohol, el ácido ósmico, el ácido pícrico, crómico, bicromato de potasa, bicloruro de mercurio, etc. La simple maceración en agua común y aun la coagulación espontánea, son condiciones que pueden determinar la disociación.

Con todo, el medio más seguro y el que permite un estiramiento más fácil y, por consiguiente, la exhibición de mayor número de estrías en las fibrillas, es el alcohol flojo (de 33 á 50°). Los músculos

frescos deberán abandonarse en este líquido por dos ó cuatro días, y serán disociados con las agujas por el procedimiento de la semidesecación. La preparación se teñirá por el carmín ó la hematoxilina y se montará en glicerina.

La *disociación* de las fibrillas por las agujas es facilísima en los músculos de las alas de los insectos, donde la coagulación de la miosina es, digámoslo así, sobre todo en ciertos insectos (muscidos), instantánea. Basta disociar en agua ó en plasma un trozo de músculo torácico de mosca común para que inmediatamente aparezcan numerosas fibrillas perfectamente aisladas. La descomposición es menos fácil en otros insectos (hidrófilo, escarabajo, etc.), y todavía más dificultosa en los neurópteros, ortópteros, etc.; pero en todo caso se logra con sólo macerar el músculo algunas horas en agua común.

El procedimiento, por decirlo así, clásico de disociación, es el del alcohol al tercio. Supongamos que se trata del hidrófilo: con unas tijeras finas se cortan las partes laterales del tórax, cuyo caparazón se levanta por su parte inferior, poniéndose al descubierto unas masas amarillentas, opacas, que se dirigen hacia la raíz de las alas. Mediante las tijeras, se tomará un poco de esta materia muscular y se trasladará al alcohol al tercio, donde se abandonará por dos ó tres días. La disociación se operará con las agujas y sin más líquido que el que empapa naturalmente las fibras recién extraídas del reactivo. La maniobra ofrece algunas dificultades que la práctica sólo puede vencer, pues no se trata de un simple desprendimiento de las fibras, cosa facilísima, sino del estiramiento y adherencia de las mismas al porta-objetos, á fin de que, al sufrir la influencia de los reactivos, permanezcan fijas y conserven todas las complicadas estrías reveladas por la distensión. Luego, y antes que la preparación se seque (un principio de desecación es favorable), se deposita en ella una ó dos gotas de una disolución concentrada y bien rancia de hematoxilina de Böhmer; al cabo de algunos minutos se lava el preparado y se monta en la glicerina ó en el bálsamo. El examen con un objetivo fuerte mostrará muchas fibras estriadas constituídas por numerosas bandas superpuestas, unas teñidas intensamente, otras casi absolutamente incoloras (véase la figura 204).

El procedimiento *de los cortes,* previa fijación al alcohol y teñido, bien en la hematoxilina, bien en las anilinas, será utilísimo, tanto en los músculos de los insectos como en los de los vertebrados, para darse cuenta de la forma y asociación de los haces y de la situación y número de los núcleos. El englobamiento en la parafina proporciona las más bellas preparaciones.

De todos los métodos de coloración aplicables á los finos cortes de tejido muscular, el que da preparaciones más espléndidas es el de Heidenhain á la hematoxilina ferruginosa (véase técnica). Mas para

obtener los mejores resultados convendrá fijar las piezas en sublimado y englobar en celoidina. Los cortes deben permanecer de seis á veinticuatro horas en el baño de hierro y la decoloración se hará en este mismo líquido con cautelosa atención para no eliminar enteramente el color de las porciones bi-refringentes de las fibras. En fin, la solución de hematoxilina (fórmula de Heidenhain) mostrará un tono rojo anaranjado, indicio de madurez que se obtiene abandonando al aire la solución fresca durante tres á cuatro semanas antes de usarla. Una coloración de fondo con una anilina ácida (fuchina ácida y ácido pícrico, según v. Gieson, etc.) completará felizmente el teñido.

Si la reacción sale bien, las estrías bi-refringentes aparecerán de color negro azulado y los discos mono-refringentes se mostrarán totalmente incoloros. Recordemos también que el procedimiento de Achúcarro impugna también enérgicamente el disco obscuro y da imágenes comparables con la hematoxilina ferruginosa.

Las *tráqueas* de las fibras de los insectos, así como las redes fibrillares de la materia estriada de vertebrados é invertebrados, se colorearán con el método rápido de Golgi, proceder doble (véase más adelante).

e) *Fibras cardíacas.*—Serán convenientes todos los procedimientos descritos anteriormente, con especialidad el del cloruro de oro. Sólo que, para obtener preparaciones bien demostrativas, se echará mano del corazón del carnero ó del buey, y no de la rana ó del conejo, cuyas fibrillas preexistentes son excesivamente delicadas y alterables.

Para la disociación se recurrirá á la potasa al 33 ó 40 por 100. Los trozos frescos de tejido cardíaco se abandonarán por media á una hora en este reactivo y luego se disociarán en él á beneficio de las agujas. El examen que deberá hacerse en el líquido reactivo mostrará los elementos cardíacos sueltos ó medio desprendidos y revelará los núcleos sumamente pálidos y homogéneos por disolución de su cromatina.

M. Heidenhain ha preconizado recientemente (1903) otro método para colorear las estrías y, sobre todo, el cemento intercalar de las células cardíacas. Cortes finos (fijación con sublimado, etc.) de corazón se embeben primeramente en un color básico, tal como el *azul de tolnidina, tionina, azul de metileno,* y después, y tras ligero lavado, llévanse á un color ácido, con el cual las citadas substancias engendran combinaciones neutras estables poco solubles. Las materias colorantes escogidas son: el *rojo de tiacina* (Thiazinroth), el moreno *(Thiazinbraum)* y la *Coeruleina (Coerulein S).* La diferenciación ó decoloración se verifica en alcohol metílico.

Para teñir especialmente el cemento ó pieza intercalar de las cé-

lulas cardíacas, recomienda también dicho autor tratar primero los cortes con *negro brillante (Brillantschwarz,* 3, *B)* y después con *safranina* (*phenosafranin*).

f) *Unión de las fibrillas estriadas y los tendones.* — Los cortes de preparados (fijados con alcohol ó con ácido ósmico) que contengan ambos tejidos, darán ya una idea aproximada. Los músculos preferibles son los intercostales en su punto de inserción en los cartílagos.

El procedimiento de los ácidos y cloruro de oro es también un buen recurso, pues demuestra claramente la terminación de las fibras preexistentes por dilataciones cónicas y los núcleos del sarcolema. Weisman ha recomendado la maceración de las fibrillas vivas en la potasa al 40 por 100 (por media á una hora).

Tienen estos procedimientos el inconveniente de no mostrar bien la presencia del sarcolema entre el tendón y la materia estriada. A fin de denunciar esta membrana y refutar la vieja opinión de que las fibrillas musculares se continúan con las tendinosas, Ranvier recomienda un medio singular, que consiste en asfixiar una rana, sumergiéndola hasta que quede rígida en agua á 55°. Examinadas las fibras en su unión con los tendones, se ve el extremo de la materia estriada fuertemente retraído, mientras que el sarcolema permanece en su sitio sujeto al haz tendinoso, al que se adhiere mediante una substancia muy tenaz. La potasa, recomendada por Weisman, obra, según Ranvier, de la propia manera. En fin, los métodos de Bielschowsky y de Achúcarro suministran asimismo imágenes muy instructivas de la unión del tendón al sarcolema. Recomiéndase una breve fijación en formol (de veinticuatro á cuarenta y ocho horas).

CAPÍTULO XX

TEJIDO NERVIOSO

Definición. — Es un tejido de origen ectodérmico, compuesto de corpúsculos muy diferenciados, generalmente estrellados y provistos de largas expansiones ramificadas, una de las cuales, mucho más larga que las otras, tiene por objeto establecer relación dinámica, bien con elementos distantes de igual naturaleza, bien con células de tejidos subordinados (musculares, glandulares y tegumentarias).

División. — Consta el tejido nervioso de tres factores de construcción: las *células nerviosas,* los *elementos neuróglicos* y las *fibras nerviosas.* Estas últimas no representan elementos independientes, sino mera continuación del cilindro-eje ó expansión larga de los corpúsculos nerviosos de los centros.

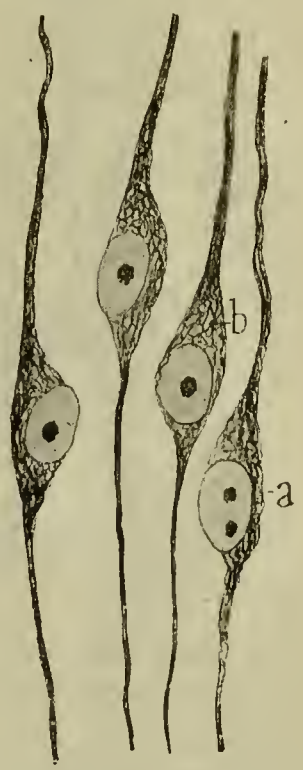

Fig. 261. — Células bipolares del ganglio de Escarpa del vestibular.

1.° **Células nerviosas.** — Estos corpúsculos, llamados también *neuronas* (Waldeyer), son, por lo común, voluminosos, ricos en protoplasma; de su reunión resulta la substancia gris del encéfalo y médula, así como la trama de los ganglios simpáticos y raquídeos.

En ellos hay que considerar: la *talla,* la *morfología* y la *estructura.*

Talla. — Llega en las células del asta anterior de la médula á 70 y más micras; pero existen también estaturas diminutas,

como las de los granos del cerebelo y del bulbo olfatorio, que no pasan de 7 μ. La dimensión más común, medida de un extremo á otro del cuerpo celular y sin contar las expansiones, es de 35 á 40 μ.

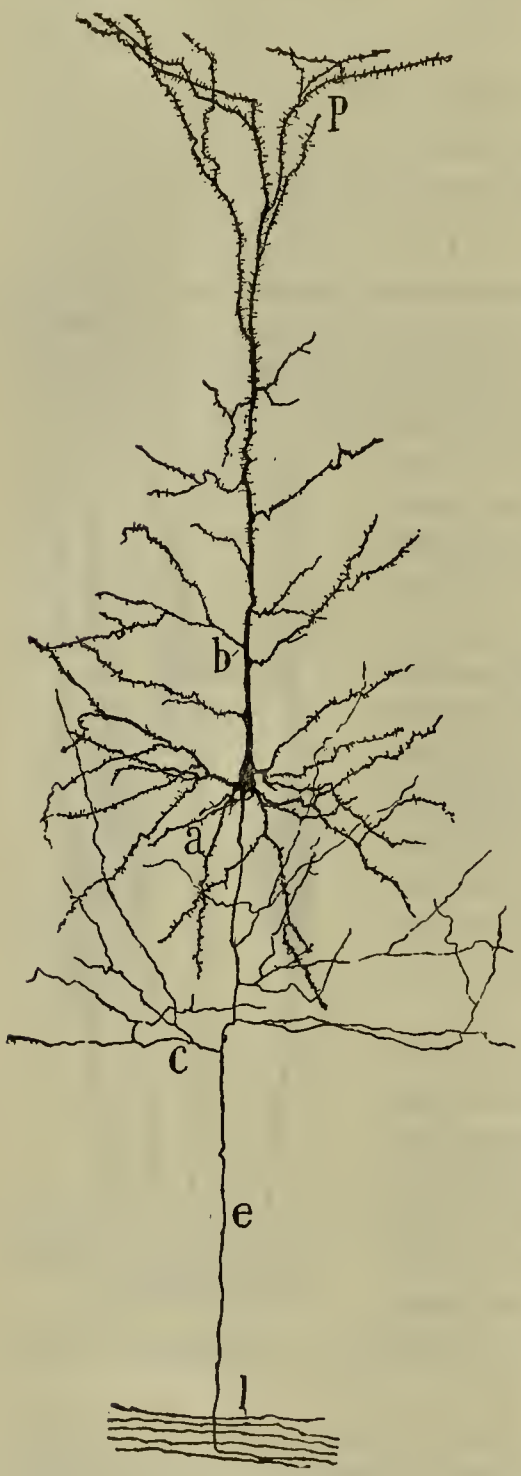

Fig. 262.—Célula piramidal del cerebro del conejo. Tipo celular del cilindro-eje largo.—*a*, expansiones protoplasmáticas basilares; *b*, tallo y sus ramas; *c*, colaterales del cilindro-eje; *e*, cilindro-eje largo; *d*, substancia blanca.

Forma.—La figura de los corpúsculos nerviosos es muy variable, y con ella se relaciona la especialidad de su función. Bajo este aspecto, distínguense las siguientes variedades celulares: 1.°, *corpúsculos monopolares*, es decir, provistos de una sola expansión, que suele bifurcarse ó ramificarse á poca distancia de su arranque (espongioblastos de la retina y células piriformes de los ganglios raquídeos); 2.°, *células bipolares* ó sean dotadas de dos apéndices contrapuestos, uno dirigido generalmente hacia una superficie sensible (figura 261), y otro que marcha hacia regiones más profundas, á veces

hacia el eje encefalo-medular (células de la mucosa olfatoria, bipolares de la retina, células del ganglio espiral del caracol, etc.); 3.º, *células multipolares,* así designadas por exhibir tres ó más prolongaciones generalmente ramificadas y terminadas libremente (casi todos los corpúsculos del cerebro, cerebelo, médula y gran simpático) (figs. 262 y 263).

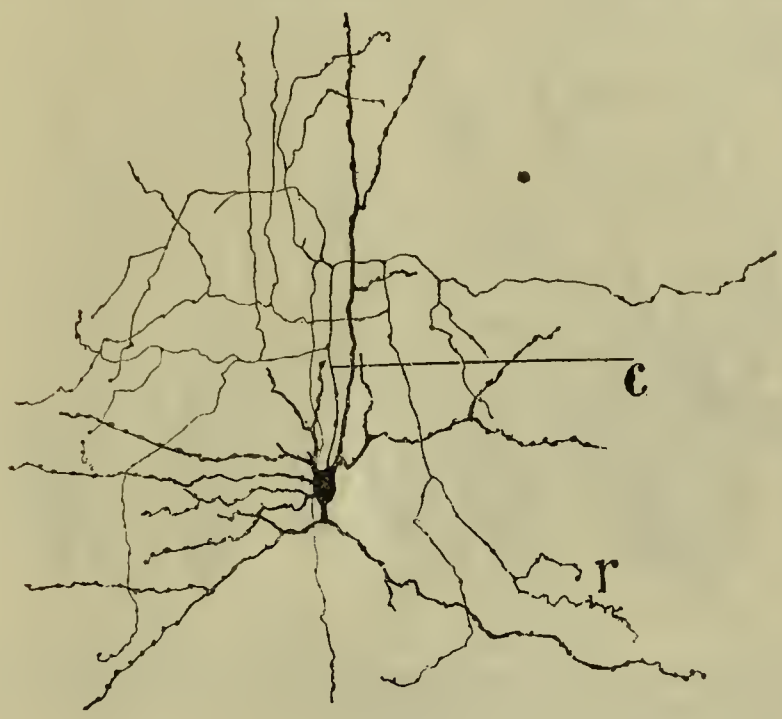

Fig. 263. — Célula de cilindro-eje corto de la corteza cerebral. — *c,* axon.

En las células multipolares no todas las expansiones tienen el mismo aspecto é igual longitud. Desde los memorables trabajos de Deiters, confirmados por Gerlach, Kölliker, Golgi, Ranvier, etc., quedó plenamente demostrado que dichos elementos poseen dos especies de prolongaciones: las *protoplásmicas* ó *ramificadas,* caracterizadas por su cortedad, frecuentes dicotomías y aspecto granuloso y hasta dentellado; y la *nerviosa, cilindro-eje, filamento de Deiters,* cuyas propiedades son: gran longitud y finura, carencia de asperezas y dentellones, y suministrar colaterales nacidas en ángulo recto (fig. 262, *e).*

Terminación de las expansiones y conexiones intercelulares. — Golgi probó que las prolongaciones protoplásmicas se terminan libremente por extremos puntiagudos en plena substancia gris; y las presunciones de His y Forel, confirmadas y convertidas en hechos de observación por nosotros, han conducido á admitir igual modo de terminación para el cilindro eje ó filamento de Deiters (1). No existen, pues, las redes nerviosas

Fig. 264. — Articulación entre el cuerpo de células nerviosas y las ramas terminales de un axon. — A, células de Purkinje; B, corpúsculo de axon corto; *a*, cestas pericelulares; *c*, axon.

que algunos sabios, basándose en observaciones incompletas, habían imaginado entre las células; éstas representan verdaderas unidades independientes ó *neuronas* — para servirnos de la expresión sugerida por Waldeyer (2) — y cada centro nervioso no

(1) El cilindro-eje ó filamento de Deiters se denomina también *axon, neurita* (Kölliker) y *dendritas* las expansiones protoplásmicas. Nosotros usaremos indistintamente las citadas expresiones.

(2) En España es error comunísimo, por desconocimiento de la bibliografía, el atribuir á W. Waldeyer, el ilustre histólogo de Berlín, la paternidad de la doctrina de las neuronas, ignorando que el citado sabio, al resumir en un semanario alemán nuestras ideas y descubrimientos, no hizo sino bautizarla con una palabra nueva, la voz *neurona* (unidad nerviosa).

es otra cosa que el resultado de la superposición ó articulación, según reglas invariables, de un gran número de unidades nerviosas. La terminación de los cilindros-ejes, según resulta de nuestros numerosos trabajos sobre el cerebro, retina, médula espinal, cerebelo, bulbo, confirmados por His, Kölliker, van

Fig. 265. — Arborización trepadora articulada con las ramas de una célula de Purkinje. — *a*, fibra nerviosa terminal; *b*, célula sobre que se aplica.

Gehuchten, Retzius, von Lenhossék, Sala, Falcone, Lugaro, etcétera, se verifica á favor de arborizaciones ó ramificaciones libres, varicosas y flexuosas, que se aplican, ora al cuerpo de las células, ora á la superficie de las prolongaciones protoplásmicas. De ahí dos categorías de articulaciones ó contactos interneuronales: *a*, el contacto *nervioso-somático*, establecido entre el

cuerpo celular y ramificaciones nerviosas, y *b*, el *contacto nervioso-dendrítico*, contraído entre tallos ó ramas protoplásmicas y ramificaciones nerviosas. En las figuras 264 y 265 damos varios ejemplos de estas articulaciones. La figura 264, B representa una célula de axon corto del cerebelo, cuya expansión funcional se resuelve en ramificaciones libres, que forman en torno de otras células á modo de cestas ó plexos íntimamente aplicados al protoplasma nervioso *(a)*.

Como caso típico de contacto entre ramas nerviosas y dendritas, presentamos en la figura 265, *a*, la articulación de las fibras trepadoras del cerebelo con los tallos protoplásmicos de las células de Purkinje.

Atendiendo á la disposición terminal de las fibras nerviosas, cabe distinguir cuatro casos: *a)* La rama final es fina, puntiaguda y se aplica á lo largo del soma ó de una dendrita (articulación entre el ramaje de las células de Purkinje y la fibra trepadora, etc.). *b*) Las últimas ramas nerviosas, al ponerse en contacto con el cuerpo celular ó expansiones, exhiben ciertos discos, bulbos ó anillos. Tal ocurre, por ejemplo, con las ramillas integrantes del nido nervioso envolvente de las células motrices de la médula. Según mostramos en la figura 266, *a*, dichos bulbos y pláculas presentan aspecto reticulado y á menudo emiten sutiles ramitas acabadas en anillos neurofibrillares. *c*) Hay casos en que la fibra se termina en recia placa ó tuberosidad, aplicada sobre el corpúsculo nervioso (centros acústicos de vertebrados inferiores, retina, etc.). *d*) En fin, el cabo final dilátase en recia maza ó disco delgado y extenso (terminaciones nerviosas en los corpúsculos de Paccini, Merkel, etc.).

Clasificación morfológica de las neuronas.—Bajo el aspecto de la longitud del cilindro-eje ó del carácter de las prolongaciones celulares, cabe todavía distinguir tres variedades de corpúsculos multipolares: 1.°, células con expansiones protoplásmicas, cuyo cilindro-eje conserva su individualidad, á pesar de las colaterales que suministra, marchando á distribuirse por otro centro nervioso ó en órganos situados fuera de los centros *(células motrices* de Golgi, *células de cilindro-eje largo* de Cajal); 2.°, elementos cuyos filamentos de Deiters, poco después de su origen, se resuelven en una extensa ramificación terminal (figura 265), situada entre los elementos inmediatos ó per-

tenecientes á la misma masa ganglionar (*células sensitivas* de Golgi, *células de cilindro-eje corto* de Cajal); 3.°, elementos cuyas múltiples expansiones no presentan distinción marcada en protoplásmicas y nerviosas, reproduciendo ciertos corpúsculos ganglionares de apéndices no diferenciados morfológica-

Fig. 266. — Bulbos y mazas terminales en torno de una célula motriz de la médula espinal. — *a, b,* bulbos recios; *d, e,* bastones finos que semejan anillos; *m,* fibra nerviosa terminal.

mente, de los animales invertebrados (gusanos, crustáceos, moluscos ó insectos, etc.). A esta especie pertenecen algunos espongioblastos de la retina, los granos del bulbo olfatorio y algunos tipos celulares de los plexos intestinales del gran simpático.

Estructura de la neurona. — Comprende lo relativo al núcleo, protoplasma y membrana.

Núcleo. — Es voluminoso, esférico y consta de las siguientes partes: *a,* fina cubierta acromática, sólo bien perceptible en las gruesas neuronas; *b,* un contenido líquido, el *nucleoplasma,* surcado en ocasiones por redes y filamentos pálidos, efecto quizás de coagulaciones *post mortem* ó acaso provocadas por los reactivos fijadores; *c,* la *cromatina* ó nucleína, sumamente pobre en las neuronas gruesas, como que está reducida, según mostró Levi, á un casquete semilunar ó apéndice verrugoso inserto en el nucleolo (fig. 268, *a); d,* las *esférulas neutrófilas* del nucleoplasma, es decir, multitud de gránulos finos, tingibles por las anilinas básicas, pero también por las ácidas (fig. 268, *d); e,* en fin, el *nucleolo,* órgano esférico y robusto intensamente, colo-

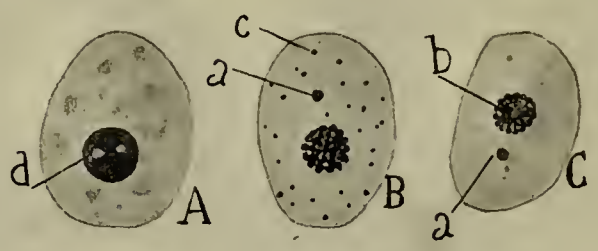

Fig. 267. — Núcleos de pirámides humanas grandes. — A, núcleo de una pirámide grande de un niño de doce años; B y C, pirámides de hombre adulto (fijación en alcohol, nitrato de plata, etc.); *a,* cuerpo accesorio; *b,* nucleolo con una vacuola central; *c,* granos neutrófilos del karioplasma; *d,* vacuola del nucleolo.

reable por las anilinas básicas, la hematoxilina y el carmín, solitario en las neuronas de gran calibre y múltiple en los diminutos elementos (fig. 267, *b).* Digamos algo de algunos de los factores mencionados.

Nucleína. — Según dejamos consignado, falta en casi todas las células nerviosas el armazón cromático que tan vivamente se tiñe en otros elementos; se exceptúan, sin embargo, algunos corpúsculos pequeños del cerebro, cerebelo y retina, cuyos núcleos exhiben una red muy aparente de cromatina, amén de un fino nucleolo (granos del cerebelo y del bulbo olfatorio, células bipolares de la retina, etc.). La concentración de la cromatina en grumo ó semiluna perinucleolar es tanto más acentuada cuanto más voluminosa es la célula. En las pirámides cerebrales del hombre con frecuencia este grumo es único y afecta forma

de tubérculo inserto sobre el nucleolo; en los mamíferos (perro, gato, conejo, etc.) aparecen frecuentemente pláculas modeladas en semilunas (fig. 268, *a)*. Excepcionalmente el grumo cromático aparece libre en pleno nucleoplasma (fig. 268, *l*, J).

Esferas nucleínicas. — En los preparados de Nissl el gran bloque nucleolar, coloreable por las anilinas básicas, afecta perfecta homogeneidad. Pero las investigaciones de Rucicka (1899), efectuadas con el azul de metileno; las de Simarro, realizadas con su proceder de impregnación argéntica (1900), y las nuestras (1903), verificadas con

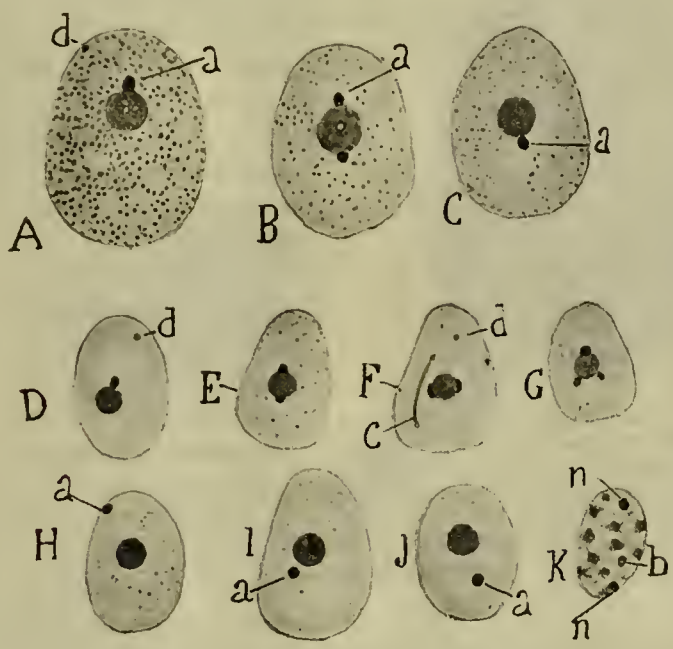

Fig. 268. — Núcleos de pirámides cerebrales del hombre adulto teñidos por el licor de Unna-Pappenheim. — A, B, C, núcleos de pirámides grandes; D, E, F, G, J, núcleos de pequeñas pirámides; H, I, pirámides medianas; K, núcleo de célula neuróglica; *a*, grumo basiófilo teñido en verde gris; *b*, granos basiófilos del núcleo neuróglico.

el método del nitrato de plata reducido, demostraron que dicha masa cromática se compone de numerosas esférulas independientes, trabadas en conglomerado, á favor de una substancia homogénea débilmente coloreable (fig. 267, *b)*. En el vivo tales esférulas son invisibles; sin embargo, en las preparaciones no teñidas y fotografiadas con luz ultraviolada, Tello (1910) las ha sorprendido con bastante claridad.

En muchas células nerviosas, en vez de un gran conglomerado de esferas cromáticas, obsérvanse dos y hasta tres nucleolos compuestos de exiguo número de elementos. Esta multiplicidad adviértese sobre todo en las neuronas de mediana y pequeña talla.

Cuerpo accesorio. — Además de las esférulas nucleolares, el nitrato de plata colorea á menudo, pero en matiz diferente (rojo naranja ó café) y siempre más pálido que en los granos nucleolares, cierta esférula situada á cierta distancia del nucleolo y á la cual hemos designado *cuerpo ó esfera accesoria.* No hay que confundirla con los *nucleolos* accesorios ó supernumerarios, frecuentes en las neuronas de pequeño ó de mediano calibre é idénticas química y estructuralmente al nucleolo principal. En la fig. 267, *a* presentamos las citadas esférulas, cuya individualidad queda probada por el hecho de no colorearse por las anilinas básicas en condiciones ordinarias y teñirse por la plata, cuando, según aparece en ciertos cortes el nucleolo no atrae el depósito metálico. Dichos cuerpos suelen ser varios en las neuronas medianas y diminutas.

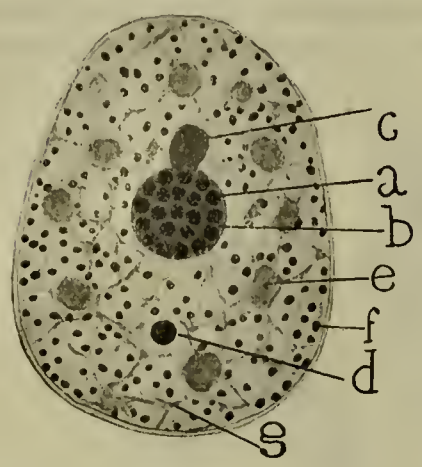

Fig. 269. — Esquema del núcleo de la pirámide cerebral humana. — *a,* esférulas argentófilas del nucleolo; *b,* materia fundamental del nucleolo; *c,* grumo basiófilo de Levi; *d,* cuerpo accesorio; *e,* grumo hialino; *f,* granos neutrófilos; *g,* filamento de linina.

Grumos hialinos. — Finalmente, deben todavía citarse, como organitos constantes é integrantes del jugo nuclear, ciertas masas ó grumos pálidos, de contorno desigual, relativamente gruesos (fig. 269, *e),* que el nitrato de plata colorea, á veces, en rosa ó pardo claro, y los cuales, insensibles á las anilinas, destacan á menudo en los preparados del método de Nissl ó en los de Unna-Pappenheim, á guisa de islotes hialinos incoloros, rodeados por enjambre de gránulos neutrófilos. Acerca de la significación de esta y otras formaciones del núcleoplasma no damos por ahora ninguna opinión.

Para totalizar las nociones estructurales precedentes, presentamos en la figura 269 un esquema donde aparecen los factores morfológicos del núcleo neuronal según los últimos estudios.

Membrana celular. — Es de extraordinaria finura, y sólo se percibe apelando á los más fuertes objetivos (1'60 apocrom. de Zeiss); á causa de esta delicadeza, ha sido negada por varios autores. Las células del asta anterior de la médula, los corpúsculos de Purkinje y las grandes pirámides del cerebro y asta de Ammon, son los elementos más á propósito para discernirla.

Esta cubierta aparece como una corteza pálida, exenta de gránulos y estrías, que se prolonga en torno de las expansiones protoplásmicas y el cilindro-eje (fig. 270, *a*). Recientemente (1913) ha sido demostrada por Achúcarro á favor de un método especial.

Red superficial ó pericelular. — En torno de la membrana se muestra, pero sólo en las células nerviosas grandes, una red superficial primeramente vista por nosotros (1897), bien descrita por Golgi (1898) y confirmada por Bethe, Donaggio y otros. Nosotros también la hemos observado usando el método de Ehrlich y el nitrato de plata reducido (1).

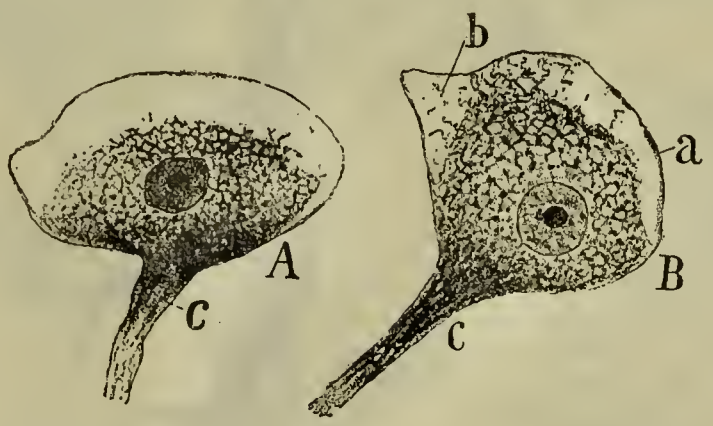

Fig. 270. — Células del foco ventral del acústico. (Método de Nissl). *a*, membrana; *c*, dendrita.

Los hilos de que consta son recios, homogéneos, sin varicosidades, limitando mallas redondas y angostísimas. Esta reticulación córrese á lo largo de las dendritas, desapareciendo por completo al nivel de las ramas terciarias (fig. 271, *a, b*).

Las opiniones de los autores sobre la significación de esta red pericelular, son muy variadas. Para Golgi constituiría un armazón protector y aislador de neuro-keratina. Bethe y Nissl se inclinan á considerarla continuada con fibras nerviosas; pero nuestras investigaciones, así como las de Donaggio, Simarro, Held, van Gehuchten, Auerbach, etc., prueban que no se trata aquí de una disposición ter-

(1) Según una fórmula especial (fijación de las piezas en mezcla de acetona y formol, lavado, inmersión por veinticuatro horas en alcohol amoniacal, etc.).

minal de arborizaciones nerviosas pericelulares, sino de un sistema de hilos totalmente independientes tanto del armazón protoplásmico como de las terminaciones de los cilindros-ejes. Verosímilmente, la citada red de Golgi representa un retículo fibrinoso ó protéico, producido en el líquido de los espacios pericelulares por los reactivos coagulantes. Tres razones hay que abonan este dictamen: 1.ª El colorearse por el método de Bethe, y contemporáneamente con las re-

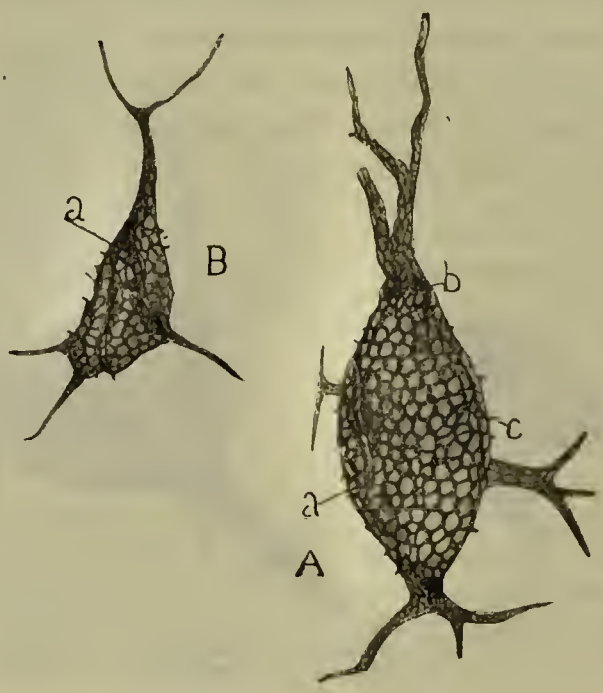

Fig. 271. — Retículo superficial de las células cerebrales. — A, célula grande de axon corto; B, célula de igual clase, pero de más pequeño tamaño; *a*, reticulación; *b*, zona obscureada sin retículo aparente; *c*, espina que parece brotar del retículo. (Método de Ehrlich).

des de Golgi, retículos intersticiales semejantes en toda la substancia gris y blanca. 2.ª El presentarse también al mismo tiempo redes parecidas dentro de los vasos (fibrina coagulada). 3.ª Finalmente, el que ninguno de los métodos de teñido específico de las neurofibrillas (el del nitrato de plata, el de Donaggio, el de Joris al cloruro de oro, etc.), impregna ni poco ni mucho las citadas redes pericelulares. Sin embargo, sobre este asunto no se ha dicho la última palabra.

Protoplasma. — Se muestra finamente granuloso, examinado en estado fresco y á regulares aumentos. Es incoloro en las células jóvenes, pero en los animales adultos, y sobre todo cadu-

cos, revela hacia un lado del cuerpo un islote de granos morenos redondeados, probablemente formados de melanina. A estos granitos se debe quizá el color moreno de la substancia gris del

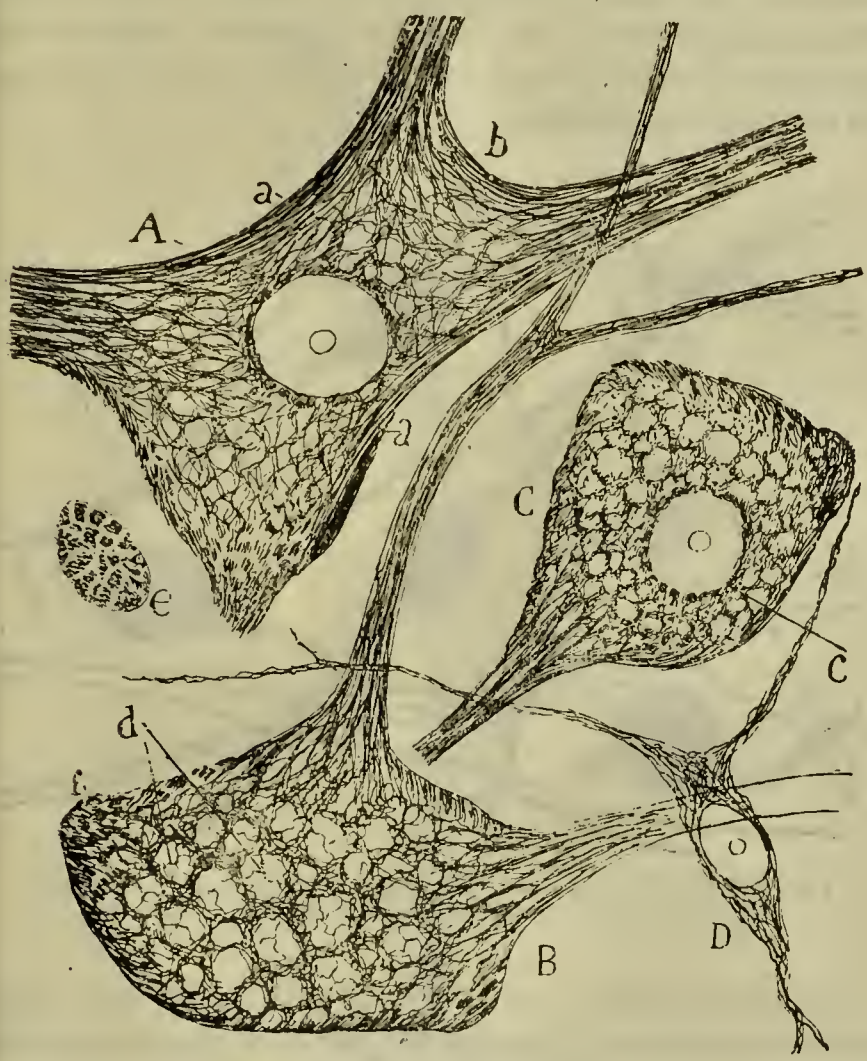

Fig. 272. — Armazón neurofibrillar de las células motrices y funiculares grandes de la médula espinal del conejo. — A, enfoque ecuatorial; B, enfoque superficial; *a* y *b*, haces superficiales; *c*, plexo perinuclear; *d*, huecos donde yacen los grumos cromáticos y alguna fina neurofibrilla; D, célula pequeña.

cerebro y médula. Consta el protoplasma de cinco cosas: *retículo neurofibrillar, inclusiones basiófilas, aparato de Golgi, espongioplasma* y *jugo celular*.

1. *Retículo neurofibrillar.* — Como en todo protoplasma, se ha descrito en el de las células nerviosas un armazón ó esqueleto de finas hebras, separado por un jugo celular sembrado de inclusiones ó gránulos. Máximo Schültze creía que estas fibrillas eran independientes, y que llegadas al cuerpo celular por las expansiones de éste, formaban haces divergentes y entrecruzados en la masa protoplásmica.

Fig. 273. — Células del foco masticador superior del trigémino. Tipo reticulado. (Método del nitrato de plata reducido).

Modernamente han resucitado esta teoría Apathy y A. Bethe, quienes estudiando, el primero, las células de los invertebrados y, el segundo, las de los mamíferos, han puesto de manifiesto la presencia de hilos finísimos dispuestos en hacecillos, los cuales se concentrarían en el axon y dendritas, marchando hasta las terminaciones de estos apéndices. Según Bethe (1900), tales hebras son absolutamente independientes, pasando de dendrita á dendrita y de éstas al axon, cruzando el cuerpo celular, sin contraer relación ninguna con las compañeras. Mas nuestras detenidas investigaciones (1903 á 1907), efectuadas con un método

que colorea mucho mejor que el de Bethe las *neurofibrillas*,

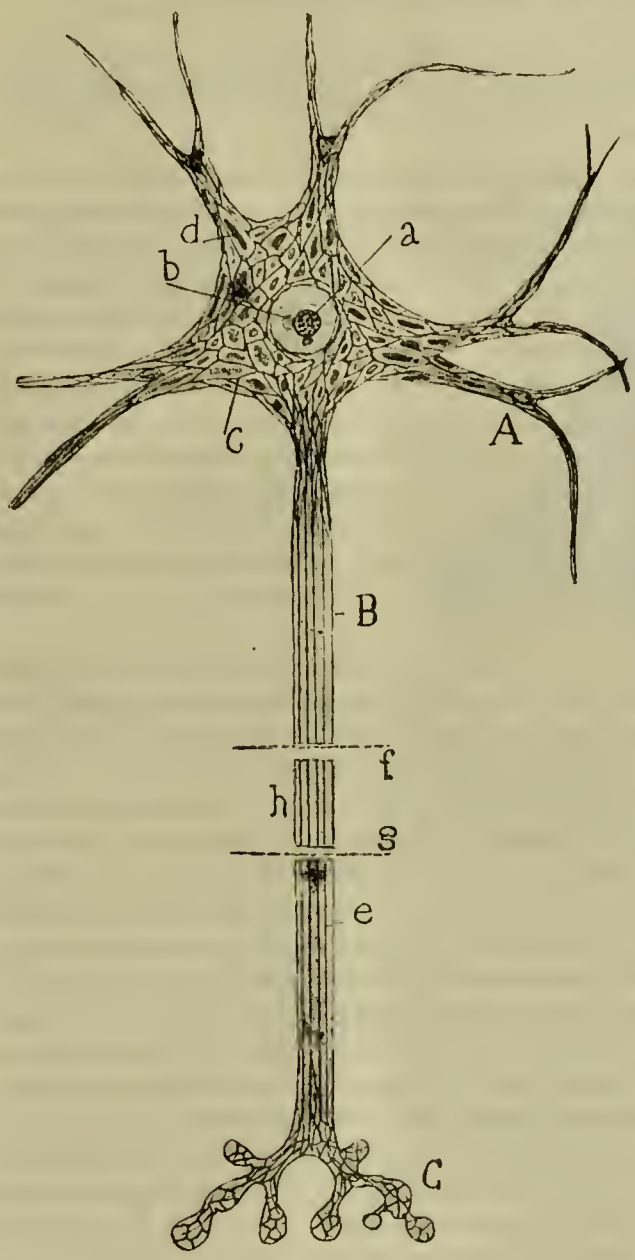

Fig. 274. — Célula nerviosa motriz, representada esquemáticamente. — A, dentritas; B, axon con las neurofibrillas ó histomeras; C, ramificación terminal en los músculos; *a*, nucleolo; *b*, cromatina nuclear; *c*, red neurofibrillar del soma; *d*, grumos de Nissl.

prueban perentoriamente que tales hebras constituyen únicamente haces independientes al nivel de las dendritas y axon;

mientras que dentro del soma se disponen en redes complicadas, en virtud de las cuales todas las hebras llegadas á la célula por las dendritas y axon entran en recíproca comunicación, generando un sistema fibrilar solidario y substancialmente continuo.

Esta disposición fundamental de las neurofibrillas fué confirmada substancialmente (1904 y 1907) por van Gehuchten, Azoulay, Lenhossék, Rossi, Joris, Tello, Marinesco, Nageotte, Retzius, etc., etc. También Donaggio (1903), independientemente de nosotros y á beneficio de un método especial, ha demostrado la existencia de neurofibrillas anastomosadas; empero, influído por las doctrinas de Bethe, admite aún la presencia de algunos hilos gruesos é independientes.

En las figuras 272 y 273 reproducimos la disposición de las neurofibrillas en diversos tipos celulares. En ellas puede repararse que la riqueza y complicación de los susodichos filamentos varía no poco con el tamaño y morfología de la célula. Bajo este aspecto cabe distinguir tres categorías neuronales: *a*) *neuronas fasciculadas ó motrices; b*) *neuronas pequeñas ó reticulares,* y *c*) *neuronas reticulo-fasciculadas ó medianas.*

a) Pertenecen al tipo *fasciculado* los grandes elementos motores de la médula, bulbo raquídeo, gran simpático, gigantes y medianas pirámides cerebrales, etc. Todas estas células exhiben huecos fusiformes para alojar los granos de Nissl (véase más adelante), entre los cuales residen condensadas en haces complicados las neurofibrillas. Según se aprecia en la figura 272, *d*, hasta en el espesor mismo de los claros se divisa tal cual filamento. Una parte del vasto sistema fibrilar pasa concentrándose al axon, que, después de formar un cono de origen, se adelgaza progresivamente, palideciendo, para ensancharse nuevamente en el punto en que comienza la vaina medular. Al nivel de dicha estrechez es imposible discernir las neurofibrillas. En fin, las hebras destinadas á las dendritas provienen de diversos parajes del armazón, y sin apretarse notablemente, como ocurre en el punto de emergencia del axon, generan un haz que va desprendiendo neurofibrillas al compás de las dicotomías dendríticas. Las últimas ramillas constan de una sola hebra excesivamente pálida y, al parecer, libremente terminada. Carecen de filamentos de este género las espinas colaterales de las dendritas y buen número de varicosidades de los axones y arborizaciones terminales de éstos.

b) Al *tipo reticulado* corresponden las células de los ganglios raquídeos y craneales, los pequeños y medianos corpúsculos de la médula, bulbo y protuberancia (células funiculares), algunas medianas y pequeñas pirámides del cerebro, casi todas las ganglionares de la retina, etc. Distínguense tales armazones por su relativa pobreza

en neurofibrillas, que no suelen constituir haces intrasomáticos, sino redes poligonales en donde confluyen las hebras arribadas del axon y de las dendritas. Muy á menudo se distinguen dos regiones bien deslindadas dentro del retículo somático: *zona cortical,* compuesta de mallas amplias é hilos laxos; *zona perinuclear,* construída de retículo aplastado y denso. Conforme han revelado nuestras observaciones, esta zona perinuclear recibe de las dendritas y axon manojos radiados formados por neurofibrillas, de ordinario más espesas que las constitutivas de la zona cortical y situadas originariamente en el eje de las expansiones. Asimismo hemos puesto de manifiesto que tales hebras se ramifican al asaltar el plexo perinuclear (figs. 273 y 275).

En los reptiles, según ha descubierto Tello, aparece con extraordinaria claridad (fig. 277, *e*), el citado plexo profundo, así como su comunicación con un sistema especial de neurofibrillas.

c) *Armazones mixtos,* es decir, en parte fasciculados y en parte flojos y reticulados, hállanse en muchas células funiculares grandes de la médula, bulbo, protuberancia, etc. La disposición reticular, así como el doble plexo somático antes descrito, preséntase tambien con claridad.

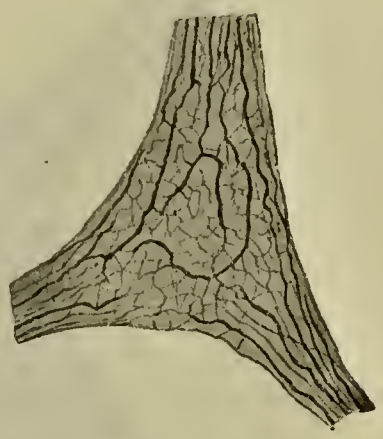

Fig. 275. — Pequeña célula de tipo reticulado de la médula espinal del conejo, donde se ven los hilos secundarios y primarios.

No todas las neurofibrillas afectan el mismo espesor. Nuestras observaciones demuestran que, en realidad, existen dos especies de hebras continuas entre sí: neurofibrillas primarias, relativamente espesas, que constituyen las principales vías del armazón; y las neurofibrillas secundarias ó finas, pálidamente coloreadas y destinadas á enlazar entre sí los filamentos primarios. En la figura 275 reproducimos un corpúsculo de la médula del conejo rábico, en que aparecen con gran evidencia ambas categorías de hebras, así como la reticulación general del armazón.

2. *Cromatina protoplásmica ó inclusiones basiófilas.*—Además de este armazón ó esqueleto fibrilar, las investigaciones de Nissl, Schäffer, etc., realizadas con un método especial de coloración, han revelado un nuevo factor protoplásmico: los *grumos ó husos cromáticos* (fig. 276).

Cuando se tiñen por el rojo magenta, azul de metileno β, ó

la tionina, etc., las gruesas células del asta anterior de la médula, previa induración en alcohol, se advierten, en medio de una masa protoplásmica casi incolora, unos cuerpos fuertemente coloreados, de un tamaño superior al de los gránulos ordinarios, puesto que miden un diámetro de 1 ½ á 3 μ. Semejantes

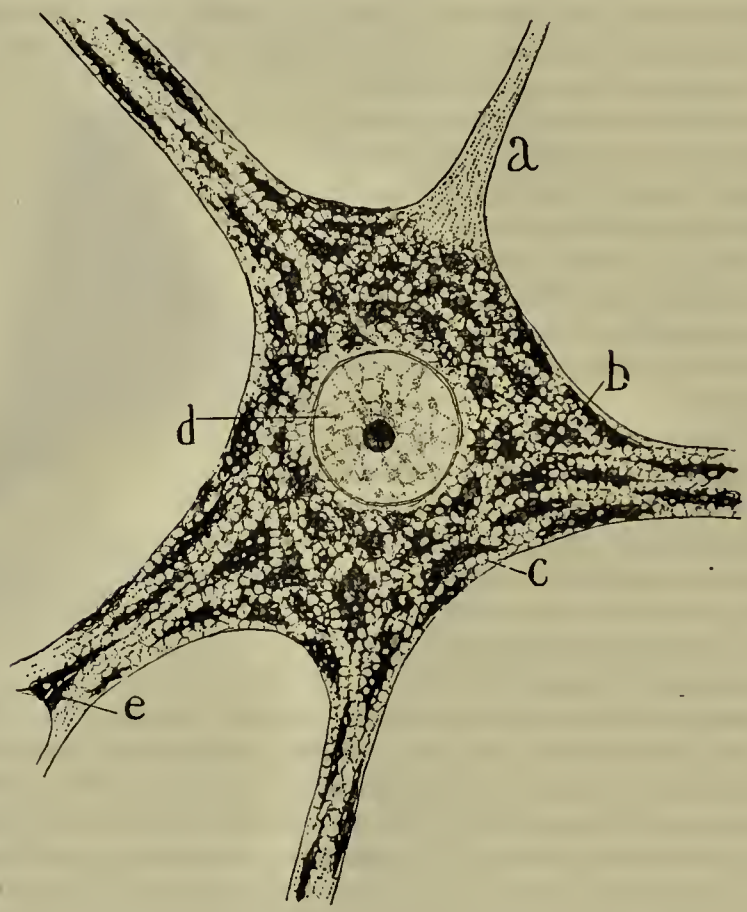

Fig. 276. — Célula motriz de la médula espinal del conejo. Coloración por la tionina. — *a*, cilindro-eje; *b*, grumo cromático; *d*, núcleo; *c*, espongioplasma; *e*, masa de bifurcación.

grumos cromófilos afectan forma triangular ó poliédrica en las inmediaciones del núcleo y están separados por escasa cantidad de substancia pálida; mas los residentes cerca de la periferia se muestran alargados, á menudo fusiformes y separados por mayor cantidad de protoplasma incoloro (fig. 276, *b*). Algunos pocos grumos cromófilos se extienden también, durante un buen

trecho, por las expansiones protoplásmicas, en las cuales se disponen en largos husos paralelos; en cambio faltan completamente en el cilindro-eje, que se presenta pálido hasta en su mismo cono de origen (fig. 276, *a)*. Esta diferencia, señalada primeramente por Simarro y confirmada por Schäffer, permite distinguir bien ambas especies de expansiones, y establece entre el cilindro-eje y el cuerpo celular un contraste de estructura y composición química, que debe guardar relación con la distinta actividad funcional de ambas partes celulares.

Algunas investigaciones nuestras nos permiten afirmar que los grumos cromáticos ofrecen en su interior un espongioplasma vacuolado, de trabéculos continuados con el esqueleto del protoplasma. Asimismo hemos notado que los grumos de Nissl no están colocados al azar dentro de la célula, sino que aparecen constantemente emplazados entre los parajes donde habitan haces de neurofibrillas ó líneas de conducción nerviosa (Lugaro, Cajal); por donde cabe conjeturar que los tales grumos desempeñan en la fisiología celular un papel pasivo, probablemente de naturaleza nutritiva. Los experimentos fisiológicos de Lugaro, Man, Marinesco y otros prueban, además, que los referidos grumos pueden sufrir grandes alteraciones en condiciones patológicas.

3. *Espongioplasma.*—En los preparados simplemente teñidos por las anilinas básicas ó ácidas, descúbrese entre los husos de Nissl una especie de esponja laminar, que mantiene unidas entre sí las granulaciones cromáticas, los tractos claros ocupados por las neurofibrillas y el núcleo y la membrana (fig. 276, *c*). Este espongioplasma, considerado como la parte conductriz del protoplasma, antes del descubrimiento de las neurofibrillas, ¿representa una disposición preexistente ó es simplemente la rejilla neurofibrillar mal presentada, incrustada y enreciada por la coagulación en hebras y grumos de los albuminoides del jugo celular? He aquí una cuestión que no está todavía resuelta y que demanda nuevas observaciones. De todos modos, estudios recientes recaídos en las grandes células de la médula espinal (método del nitrato de plata reducido, previa fijación alcohólico-amoniacal), nos inclinan á pensar que las neurofibrillas están contenidas dentro de tabiques ó láminas interalveolares, constituídas de una materia al parecer homogénea y débilmente coloreable por la

plata. Semejantes trabéculas intersticiales podrían corresponder á la esponja revelada por el método de Nissl.

4. El *jugo celular* es el líquido transparente que empapa todos los huecos del espongioplasma y de las neurofibrillas. Abunda mucho proporcionalmente en las células de tipo reticulado y su composición química se desconoce. En suspensión en este líquido hállanse finas granulaciones coloreables por el método de Altmann, y que Held, que las ha estudiado bien, designa *neurosomas*. Para Nageotte (1909)

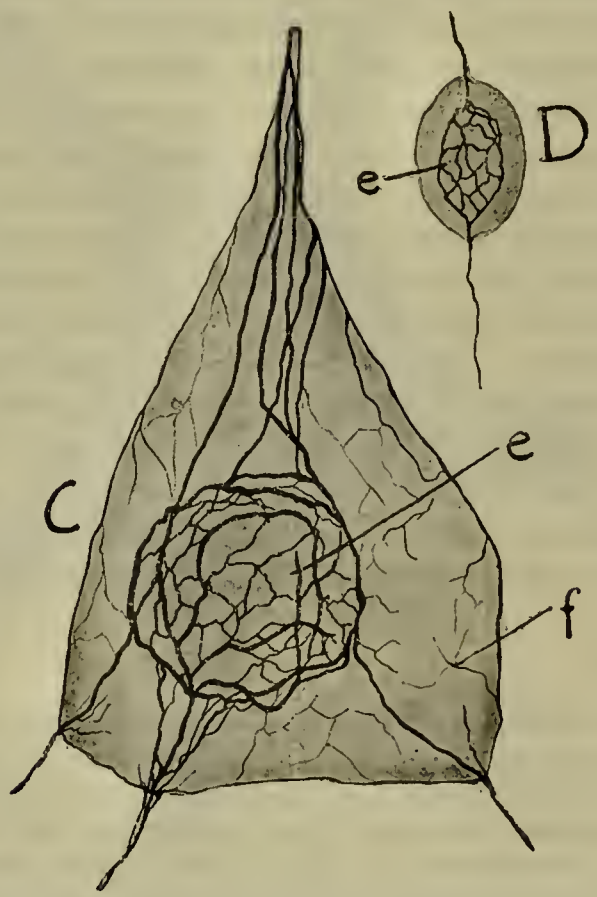

Fig. 277. — Disposición de la red perinuclear en las células de la médula y bulbo de los rectiles (según Tello). Método del nitrato de plata reducido. — *e*, red perinuclear; *f*, trabéculas finas de la red superficial.

estos finos granos corresponderían á las *mitocondrias* de Benda y Meves. Opinión semejante profesan Mawas (1910) y Cowdry (1912). Trátase, en general, de gránulos finísimos intercalados á los grumos de Nissl, y residentes tanto en el soma como en las expansiones. Para Retzius (1912), tales granos, lejos de ser libres, hallaríanse enclavados en ciertos cordones no anastomosados, diferentes de las neurofibrillas (*mitom* de Flemming).

Que los citados gránulos sean positivamente idénticos á las mitocondrias de Benda y Meves, es pleito harto dudoso, sobre todo si se tiene presente, como nota Duesberg, que los métodos de teñido clásicos del condrioma (el de Benda, el de Regaud y el de Meves), dejan percibir, con gran rareza y escasez, granos y filamentos en el protoplasma nervioso. Sin embargo, Luna (1913) pretende haberlas coloreado en los dos primeros métodos.

Fig. 278. — Perro adulto. Aparato reticular de Golgi de una pirámide cerebral. (Método del nitrato de plata reducido con fijación en formol-acetona).

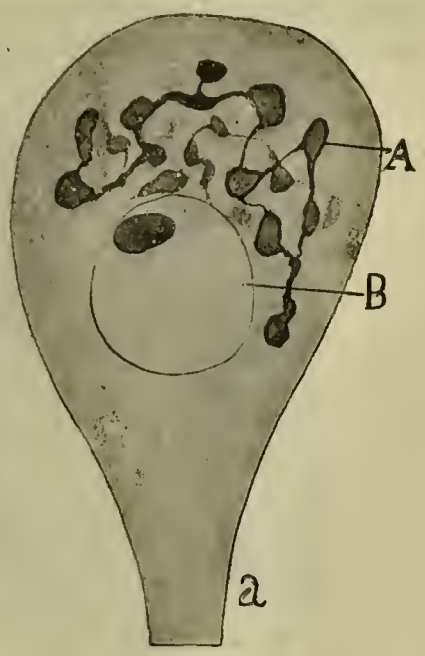

Fig. 279. — Célula nerviosa de la lombriz de tierra. — A, intestino protoplásmico; B, núcleo (método del nitrato de plata reducido).

5. *Aparato reticular de Golgi* (fig. 278). — Según expresamos en la parte general de este libro, los trabéculos de este aparato se presentan en las células nerviosas de los mamíferos muy numerosos y dispuestos, como ha demostrado Golgi, en retículo perinuclear, que suele dejar libre la región cortical del protoplasma. Sin embargo, en los corpúsculos multipolares de la médula espinal, cerebro y cerebelo, esta red tubular se extiende á casi todo el protoplasma somático, constando de numerosos cordones sinuosos, moniliformes, separatorios de angostos espacios interlobulares. En armonía con las conclusiones de Golgi, Veratti y Soukanoff, no hemos logrado hallar comunicación entre dichos cordones intracelulares y el exterior, por

lo cual no podemos aceptar la opinión de aquellos sabios que reputan los referidos cordones como un sistema de conductos nutritivos en continuación con los vasos ó con elementos neuróglicos (el *neurospongium* de Holmgren).

Células nerviosas de los invertebrados. — Las investigaciones de Retzius, Lenhossék, Apathy, Bethe, etc., sobre los ganglios de los invertebrados, prueban que las neuronas de estos animales simplifican su morfología conforme se desciende en la escala animal. Así, en los vermes, preséntanse en su mayor parte monopolares, del mismo modo que en insectos, crustáceos y gasterópodos. No obstante, en algunos gusanos (*Lumbricus,* etc.), aparecen ya elementos con dos ó más expansiones, nacidas generalmente del polo profundo de la neu-

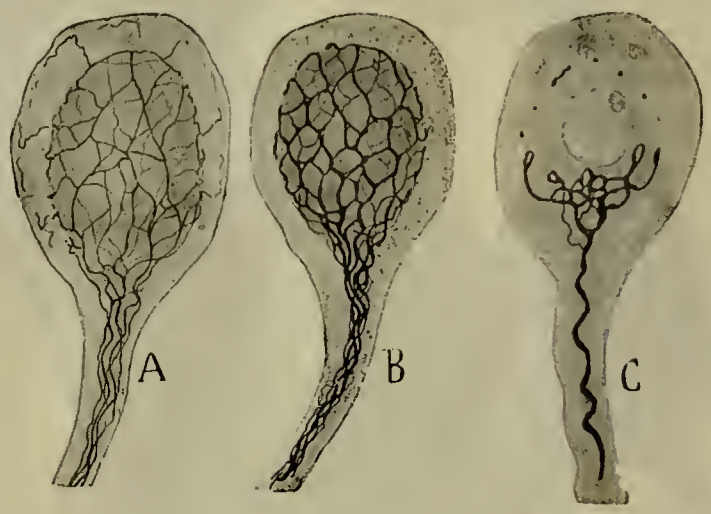

Fig. 280. — Células nerviosas de los ganglios de la sanguijuela (método del nitrato de plata reducido).

rona (fig. 281, *c*). La expansión única es recia; dirígese hacia las regiones profundas del ganglio, donde existen territorios plexiformes especiales (*Punksubstanz* de Leydig); suministra colaterales ó ramas cortas ramificadas en estas zonas, y finalmente, emerge del ganglio, constituyendo una fibra motriz (fig. 281). Los trabajos ya citados de Retzius y Lenhossék han revelado que las expansiones cortas repartidas en el interior del foco, representan las *dendritas* de las neuronas de los mamíferos, dendritas que, en vez de proceder, como en éstos, del soma, emanan de la porción originaria del axon. Asimismo se ha comprobado que tanto las referidas expansiones protoplásmicas como el axon, se terminan libremente á favor de arborizaciones varicosas.

Posee cada célula ganglionar de los invertebrados núcleo, membrana y protoplasma. Dentro de este último se contienen también

un aparato de Golgi (de ordinario confinado en la región supranuclear) (fig. 279, A), finos grumos cromáticos, un espongioplasma pálido y, sobre todo, las neurofibrillas.

De estas últimas, que se presentan en algunos invertebrados con admirable claridad, vamos á decir algunas palabras. Descubiertas por Apathy mediante su método al cloruro de oro, fueron confirmadas por nosotros (1903), Azoulay y Nageotte (1904 y 1912) con el proceder del nitrato de plata reducido, que las colorea espléndidamente (fig. 280). De ellas han dado modernamente una buena y ex-

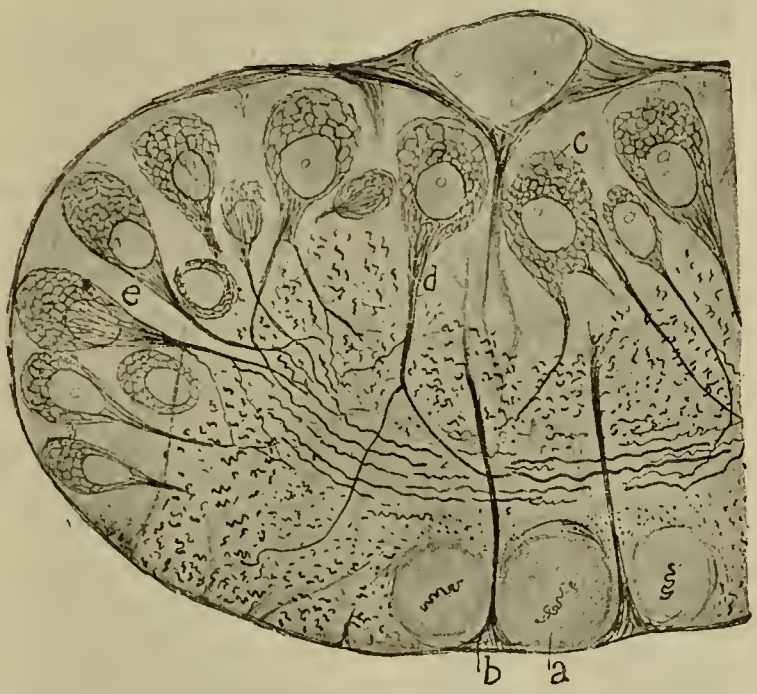

Fig. 281. — Corte transversal de un ganglio de la lombriz de tierra. (Método especial al cloruro de oro y ácido pirogálico). — *a*, tubo nervioso colosal; *c*, *d*, células multipolares; *e*, elementos monopolares.

tensa descripción D. Sánchez (1909-1912), que ha modificado á este propósito las fórmulas de impregnación argéntica y Ascoli (1913) que añade algunos detalles interesantes. Según aparece en la figura 280, existen tres tipos neurofibrillares (sanguijuela): *a*) el tipo pequeño, provisto de una recia red perinuclear, continuada inferiormente con un hilo emplazado en el eje del axon; *b*) tipo gigante en posesión de una red de mallas anchas, situada á distancia del núcleo y no lejos de la periferia protoplásmica y convergente á un haz de recias neurofibrillas llegadas de la expansión principal (fig. 280, A); y *c*) corpúsculo mediano, cuya rejilla neurofibrillar viene á ser en extensión y posición una disposición intermedia entre las dos categorías prece-

dentes (B). En la célula C, figura 280, reproducimos una fase destructiva del retículo hallada hace algunos años por nosotros (1905) en las sanguijuelas sometidas á la inanición prolongada y confirmadas por Rebizzi y Sánchez (1912).

Las neurofibrillas del tallo ó expansión principal, arribadas que son á las *zonas plexiformes* del ganglio, se dispersan, continuándose unas con las dendritas, concentrándose otras en el axon propiamente dicho. Cuando, según ocurre en los elementos pequeños, el

Fig. 282. — Célula de neuroglia de la substancia blanca de la médula espinal. Disociación por el bicromato de potasa diluído. Coloración con carmín.

axon encierra una sola y recia neurofibrilla, ésta se ramifica en la *Punksubstanz*, continuándose con el axon y finas dendritas. Contra el parecer de Apathy, nuestras investigaciones demuestran que las neurofibrillas no forman redes en las zonas plexiformes ó puntiformes del ganglio, sino que acaban libremente á favor de hebras palidísimas rodeadas de una corteza de protoplasma indiferenciado (espongioplasma).

En otros invertebrados, tal como el *Lumbricus,* las redes neurofibrilares llenan todo el protoplasma, faltando, por tanto, la elegante rejilla perinuclear (fig. 281).

Células de neuroglia ó de Deiters.—Entre las células y tubos nerviosos de los centros, residen unos corpúsculos menudos, de cuerpo estrellado y guarnecidos de largas, finas y abundantes expansiones divergentes (fig. 282). El núcleo ocupa casi todo el cuerpo celular, y á diferencia del de los elementos nerviosos, exhibe una red cromática bien aparente y dispuesta en capa cortical por debajo de la membrana acromática. En la neuroglia joven, junto al núcleo y en el origen de la más gruesa expansión, aparece un diminuto aparato de Golgi (método del urano-formol).

Fig. 283.—Células neuróglicas de largas radiaciones, tomadas de la substancia blanca del cerebelo.

La abundancia, finura, escasas dicotomías y aspecto granuloso y flexuoso de los apéndices de las células neuróglicas, distinguen perfectamente estos elementos de los nerviosos. De la reunión de semejantes apéndices, entrecruzados de mil modos, resulta la trama ó plexo de hilos que separa los tubos de la substancia blanca y de las células de la gris. A favor del método de Golgi, se reconoce fácilmente que esta trama es un plexo y no una red, como algunos autores habían creído. Por lo demás, hoy se admite, con pocas excepciones, que tanto los apéndices neuróglicos como los de las células nerviosas, acaban libremente sin anastomosarse jamás.

De presumir es, por tanto, que la teoría del *Syncytium*, que alcanzó con Held su florecimiento conquistando valiosas adhesiones entre los neuro-patólogos (Nissl, Alzheimer, Fieandt, Eisath,

da Fano, Cerletti, etc.), será pronto definitivamente abandonada. Aparte de constituir para la patología grave dificultad (la glía morbosa reacciona individualmente), los tres métodos modernos

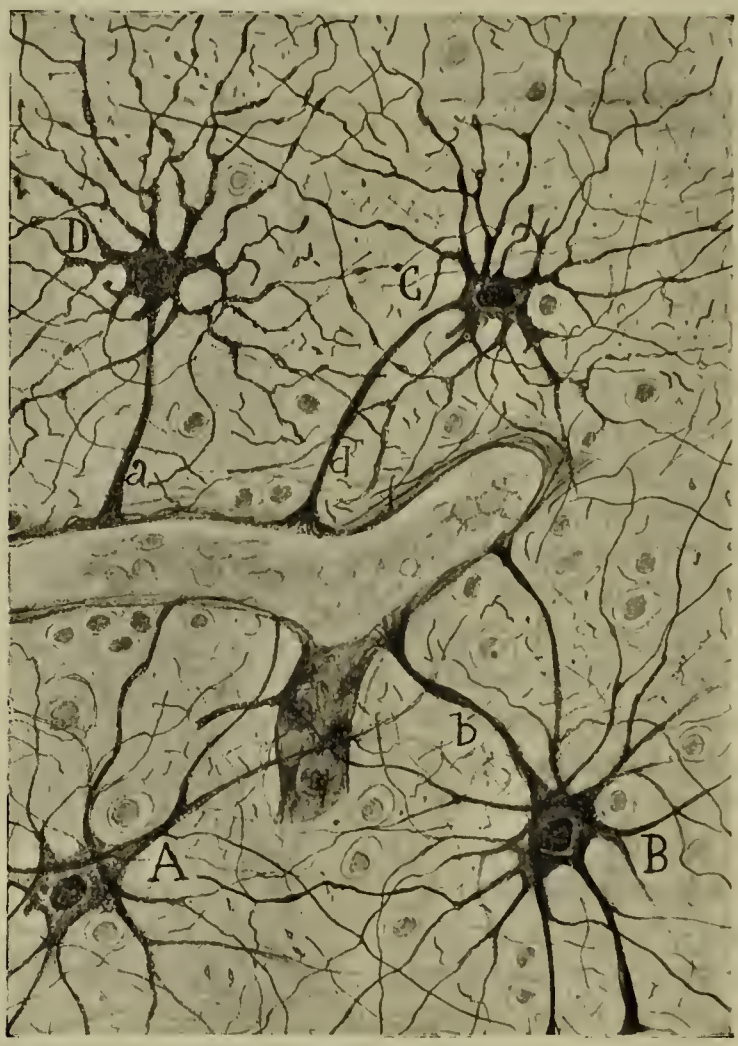

Fig. 284. — Células neuróglicas de la substancia blanca del cerebro humano adulto. Método del oro. — A, aspecto de ciertas células donde se divisa un aparato fibrillar; B, C, aspecto ofrecido por otras donde el protoplasma teñido en masa no consiente la percepción de fibras; *a, b, d*, pies perivasculares.

de impregnación neuróglica, á saber: el de Achúcarro (1911), (método al tanino y plata amoniacal), el del oro-sublimado (1913) y el del formol-urano (1912), propuestos recientemente por nosotros, no favorecen, antes pugnan con dicha concepción. Las

expansiones neuróglicas reveladas por dichas fórmulas, confirman plenamente los clásicos resultados del método de Golgi, mostrando ramificaciones sucesivas y plexos tupidos (fig. 286), pero no la *reticulación difusa* de Held.

Bajo el aspecto de la forma, es preciso distinguir tres tipos de células neuróglicas: 1.°, *tipo de la substancia blanca,* el cual afecta forma estrellada y exhibe larguísimas expansiones lisas, poco ó nada ramificadas y bien coloreables por el método de Weigert (fig. 284); 2.°, *tipo de la substancia gris,* constituído

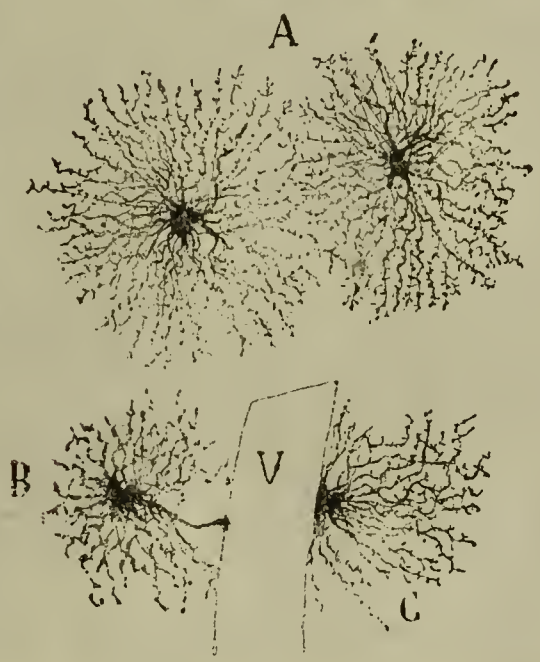

Fig. 285. — Células neuróglicas de cortas radiaciones, tomadas de la substancia gris del cerebro. — B, C, células perivasculares.

por elementos estrellados, alargados ó fusiformes, provistos de expansiones ordinariamente más cortas, erizadas de espinas ó de apéndices verrugosos colaterales (fig. 285), y 3.°, *el tipo adendrítico*, sin expansiones, acerca de cuya naturaleza no se ha llegado todavía á un acuerdo, y que sólo á título provisional cabe incluir entre los elementos gliomatosos.

a) *Neuroglia de la substaucia blanca.* — Los importantes estudios de Weigert (1895), han puesto de manifiesto una importante particularidad de las células neuróglicas. Usando un mé-

todo especial de coloración (véase más adelante la técnica del tejido nervioso), ha demostrado este sabio en las células en araña dos substancias: una granulosa, que forma el cuerpo celular y acompaña en parte los filamentos; y otra homogénea dispuesta en hilos (filamentos neuróglicos propiamente dichos)

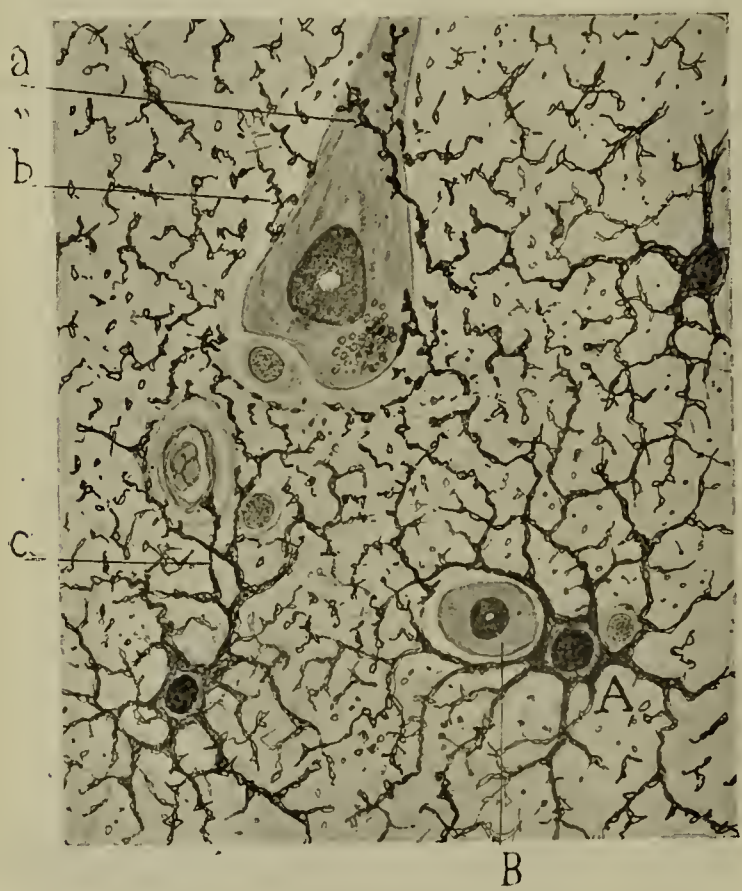

Fig. 286. — Trozo de un corte de la corteza cerebral del hombre adulto normal. — A, astrocito protoplásmico; B, neurona probablemente de axon corto; *a*, *b*, pedículos pericelulares continuados con apéndices neuróglicos; *c*, fino pedículo perivascular. (Coloración por el cloruro de oro).

la cual atrae vivamente el violado de metilo (método de Weigert). Tales filamentos coloreables atravesarían de parte á parte el cuerpo celular, de manera que dicho cuerpo con su materia granulosa, vendría á ser solamente un punto de entrecruzamiento de multitud de filamentos neuróglicos independientes.

Los astrocitos de la substancia blanca poseen uno ó varios recios apéndices designados *pedúnculos vasculares* ó *aparatos chupadores*, insertos sobre la adventicia de los vasos inmediatos (figura 284). En la porción originaria de este pedículo yace, según hemos mostrado Achúcarro y nosotros, el centrosoma. En el hombre obsérvase con frecuencia, ya en el soma, ya en uno

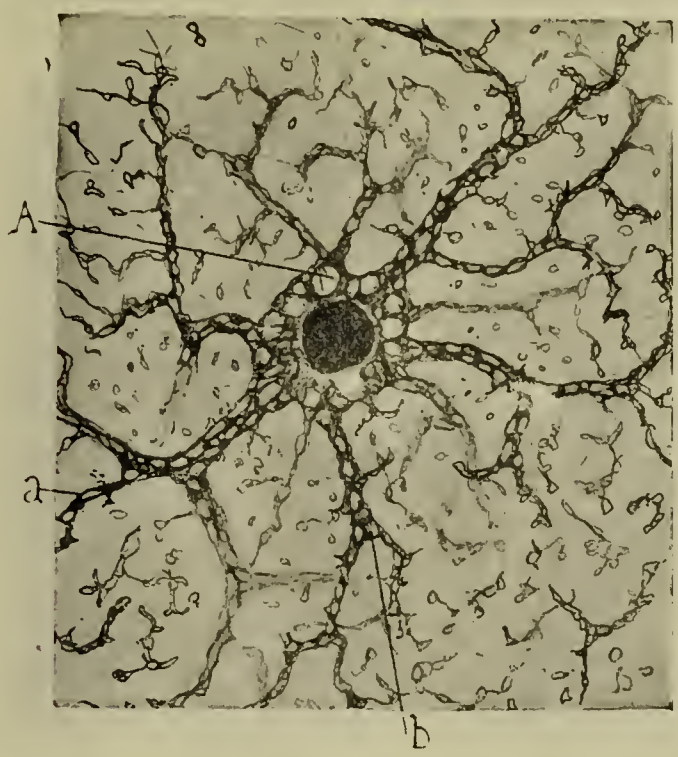

Fig. 287. — Gruesa célula neuróglica de la capa de las pirámides del asta de Ammon del hombre adulto. — A, grandes vacuolas del soma; *a, b,* huecos de las expansiones destinados á los gliosomas.

de los apéndices radiados, cierto divertículo, á veces modelado en zurrón, relleno de esférulas coloreables por el nitrato de plata y semejantes á los gránulos de pigmento de las neuronas.

b) *Células neuróglicas de la substancia gris.* — Caracterízanse, según dejamos dicho, por la cortedad y aspecto velloso de sus expansiones, así como por la ausencia de fibrillas de Weigert diferenciadas. Desde el punto de vista estructural, y prescindiendo del núcleo y centrosoma, que nada tienen de particular, son de notar en el protoplasma de estos astrocitos: un es-

póngioplasma cavernoso, tingible por el oro (método del sublimado-oro) (fig. 287, *b)*, y ciertas esférulas ó inclusiones señaladas por muchos autores, y recientemente estimadas por Nageotte (1910), Mawas (1910) y Achúcarro (1914), como legítimas mitocondrias. A imitación de los astrocitos de la substancia blanca, los de la gris poseen también pedículos vasculares, pero éstos son finos y se insertan sobre el endotelio de capilares vecinos,

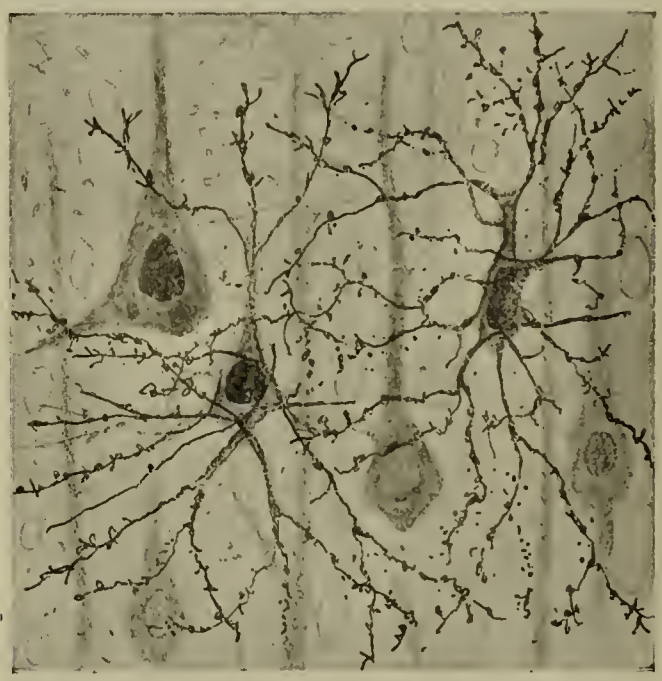

Fig. 288. — Células neuróglicas de tipo mixto de la corteza del gato adulto. Nótese al nivel del soma una diferenciación fibrillar semejante á la característica de los astrocitos de la substancia blanca.

á favor de pequeña eminencia cónica (fig. 286, *c)*. En el hombre contiene el soma, casi constantemente, granos pigmentarios. Son frecuentes los grupos isogénicos de dos y cuatro astrocitos, de que en la figura 289, B presentamos ejemplo.

En fin, entre el corpúsculo neuróglico de la substancia gris y el de la blanca encuéntranse transiciones. Estos corpúsculos mixtos presentan apéndices vellosos, y al nivel del soma y porción inicial de éstos percíbense fibrillas de Weigert bien diferenciadas (fig. 288). Habitan en la capa molecular del cerebro

y porciones profundas de la gris (hombre), y en casi toda la corteza cerebral de los mamíferos (perro, gato, etc.).

Entre las variedades neuróglicas de la substancia gris merecen consignarse: 1.°, los *corpúsculos satélites,* es decir, astrocitos que rodean con sus apéndices el soma de la neurona (fig. 286, A); 2.°, los astrocitos perivasculares, señalados hace tiempo por Andriezen, y cuyos apéndices forman plexos fibrilares en la adventicia; 3.°, los corpúsculos en *forma de búcaro*, bien descritos por Achúcarro (1913) en la corteza cerebral del gato y perro jóvenes, y que representan

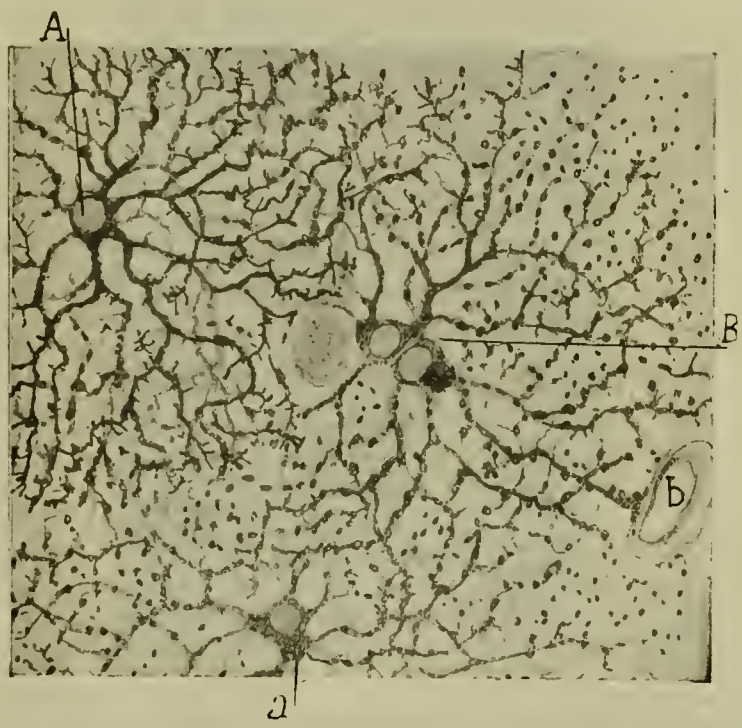

Fig. 289. — Plexo neuróglico de la substancia gris impregnado por el nitrato de plata reducido (fijación por veinticuatro horas en formol-urano). Cadáver de mujer, autopsiado á las dos horas. — A, astrocito intensamente teñido; B, pareja de astrocitos coloreados menos vigorosamente y en los cuales se observan los gliosomas; *a,* pigmento en un astrocito; *b,* vaso sobre el cual se fija un apéndice chupador.

astrocitos de forma juvenil, con predominio del pedículo vascular, formas subsistentes en el conejo adulto y otros animales leiencéfalos; 4.°, las *células cometarias* de Retzius, de que abundan ejemplos en la capa molecular cerebral.

c) Los *elementos adendríticos* señalados hace tiempo por Bevan, Lewis, Roberston y Nissl, confirmados modernamente por

Bonome (1909) y Eisath (1911), etc., han sido recientemente impregnados por nosotros (método del formol-urano, 1914). Trátase de células pequeñísimas, redondeadas, de contorno tuberoso, á veces ornado de protuberancias ó apéndices breves, fusiformes, que les prestan aspecto de rueda dentada (fig. 290). Hacia el lado del soma más rico en protoplasma destaca diminuto aparato de Golgi. El núcleo, frecuentemente excéntrico, es exiguo. Por la

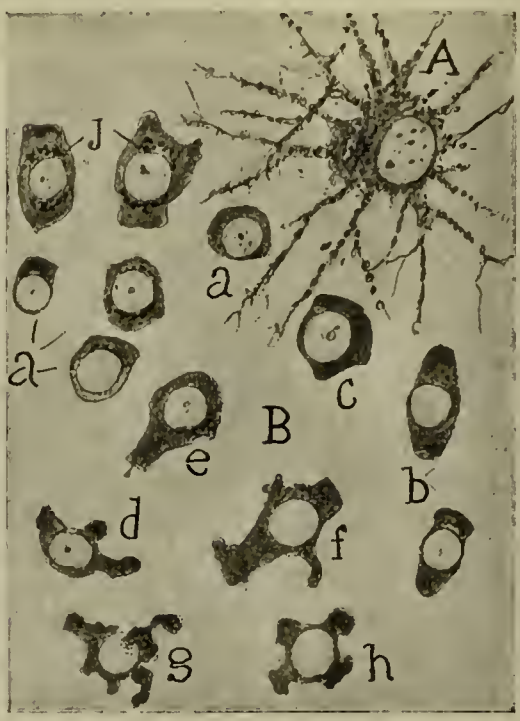

Fig. 290. — Células impregnadas en la substancia blanca del gato de veinte días. Fijación en formol-urano. Reducción argéntica. — A, astrocito común; B, diversos tipos de células diminutas adendríticas tomadas de diversos parajes de la substancia blanca.

dimensión del soma diferéncianse dos modalidades: tipo menudo, casi redondeado, cuyo núcleo aparece envuelto en escasa cantidad de protoplasma (fig. 290, *a)*, y tipo relativamente grande, más ó menos poliédrico, cuyo soma, rico en dicha substancia (figura 290, *f, g, h)*, se recorta á veces en protuberancias.

El *tipo adendrítico* no falta en ningún órgano nervioso central, pero abunda especialmente en la substancia blanca, entre cuyas fibras meduladas se dispone en series lineales.

Células gérmenes de la neuroglia adulta, para unos; corpúsculos especiales de los centros, por igual alejados de la neurona que de la glía, según otros, en realidad no se sabe nada acerca de la naturaleza y significación fisiológica de dichos corpúsculos, cuya realidad incuestionable manifiestan de consuno, tanto el método del formol-urano, que da imágenes positivas (fig. 290), como el del sublimado oro que las da negativas, es decir, que impregna constantemente la neuroglia en violado, sin teñir ni poco ni mucho el susodicho corpúsculo adendrítico.

CAPÍTULO XXI

FIBRAS NERVIOSAS AMEDULADAS Y MEDULADAS

Como ya hemos expuesto anteriormente, las fibras nerviosas representan mera continuación de la expansión de Deiters ó cilindro-eje de las células de los centros.

Llámanse *nervios* ó *cordones nerviosos* los órganos extracentrales construídos por la asociación de las expansiones nerviosas que llevan un mismo camino. La asociación intracentral (cerebro, médula) de dichos cilindros-ejes engendra la substancia blanca del eje encefalo-raquídeo.

Divídense los tubos ó fibras nerviosas en dos variedades: *fibras medulares* ó de los nervios cerebro-raquídeos; *fibras amedulares, de Remak* ó del gran simpático. Las primeras han tomado el apelativo de medulares, por ofrecer una cubierta de mielina, especie de barniz grasiento aislador de la corriente nerviosa; y las de Remak ó amedulares desígnanse así por carecer de dicha envoltura.

Las fibras de Remak son la continuación de los cilindros-ejes de las células de los ganglios del gran simpático (fig. 291, B), y se encuentran especialmente en los nervios nacidos de este sistema ganglionar, mientras las fibras medulares representan, ó la expansión periférica de un corpúsculo sensitivo yacente en los ganglios raquídeos, ó el cilindro-eje de una célula motriz de la médula ó encéfalo, y residen en los nervios ó pares encefalo-raquídeos.

Fibras amedulares. — Cuando se disocia un nervio emergido de un ganglio simpático, se reconocen unas fibras pálidas, cilíndricas, de 3 á 5 μ de espesor, de contorno neto y exento de membrana aparente. De trecho en trecho presentan estas fibras ciertos núcleos elipsoides de 8 á 10 μ de largo, por 3 á 5 μ de grue-

so, los cuales se superponen estrechamente á las mismas; el pro-

Fig. 291.—Células del gran simpático del gato (método de Ehrlich).—*a*, axones; *b*, ramas protoplásmicas, varicosas; *c*, axones penetrantes en el cordón interganglionar.

toplasma que los rodea es escaso, granuloso, se acumula algo en los polos nucleares y se prolonga bajo la forma de fina membrana, que recubre una buena parte del cilindro-eje. Ignórase si este forro protoplásmico es continuo ó discontinuo, pues no se aprecian bien los límites de cada territorio celular (fig. 292, *a)*. Mediante el método del urano-formol, según mostramos en la figura 294, *a,* el protoplasma polar de los núcleos exhibe aparato de Golgi rudimentario. Tocante á la fibra nerviosa propiamente dicha ó axon, exhibe un aspecto pálido y ligeramente estriado á lo largo; su contorno está bien deslindado del forro protoplásmico, como lo prueba la circunstancia de que el método de Golgi tiñe la fibra en negro, dejando absolutamente incoloro el núcleo y su expansión de protoplasma.

Fig. 292. – Fibras de Remak disociadas de un nervio simpático. — *a,* núcleo.

Las fibras ameduladas se reunen en hacecillos longitudinales para formar los nervios de la vida orgánica; entre ellas yace un cemento de unión, así como las expansiones de numerosas células neuróglicas (fig. 293).

En la figura 293, B, aparecen estos hacecillos cortados de través con los tabiques intercalares conectivos y el neurilema.

Fibras meduladas.—Son verdaderos tubos, de composición bastante compleja, que se distinguen fácilmente al microscopio por la obscuridad de sus bordes y presencia de un doble contorno. Estos tubos son cilíndricos y de un diámetro oscilante entre 6 y 10 μ. Como ha demostrado Ranvier, de trecho en trecho, es decir, á distancias variables entre $^1/_2$ á 1 milímetro, el tubo nervioso exhibe ciertos cuellos ó estrecheces *(estrangulaciones* de Ranvier), á cuyo nivel la mie-

lina queda interrumpida, observándose en su lugar un disco transversal de cemento. Este disco se tiñe en negro por el nitrato de plata (fig. 295, *b)*, y destaca en claro en los tubos nerviosos ennegrecidos por el ácido ósmico (fig. 295, *a)*.

Llámase *segmento inter-anular* el intervalo que existe entre dos estrangulaciones. De fuera á adentro, los tubos nerviosos tienen que estudiar: la *membrana de Schwann,* la *célula de Schwann,* la *mielina,* la *vaina de Mauthner* y el *cilindro-eje.*

a) *Membrana de Schwann.*— Es una cubierta hialina, elástica, que rodea el tubo nervioso, moldeándose exactamente á la mielina. Al nivel de las estrangulaciones recibe la inserción de los discos de cemento, se continúa por fuera de éstos para pasar á otro segmento interanular. Resiste esta membrana á la potasa, y no se tiñe por los reactivos colorantes.

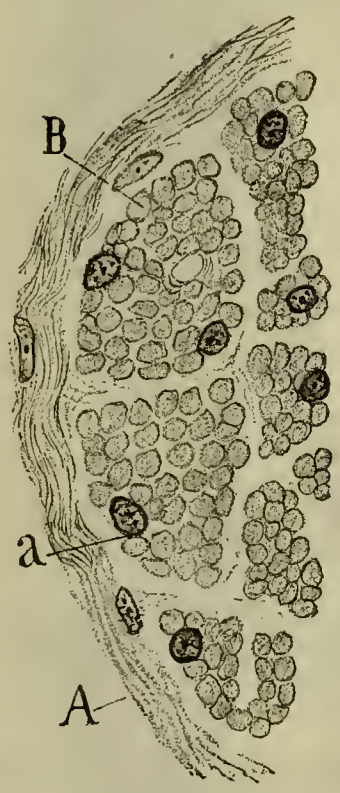

Fig. 293.—Corte transversal de un nervio simpático. — A, neurilema; B, fascículo nervioso amedulado.

b) *Célula de Schwann.*—Cada segmento inter-anular posee un sólo núcleo alargado, adherido exteriormente á la membrana de Schwann, y emplazado por dentro en una foseta ofrecida por un segmento de mielina (figura 295, *f, n*). En torno del núcleo se ve un acúmulo de protoplasma extendido por debajo de la vaina de Schwann. Para Ranvier, este protoplasma envuelve los segmentos de mielina, constituyendo un forro para todos los órganos constitutivos de cada segmento inter-anular. Las investigaciones modernas de Nemiloff (1908 y 1911), Nageotte (1910) y nosotros (1911) han confirmado en principio este pensamiento del sabio francés, añadiendo interesantes detalles. Coloreado por

nitrato de plata (una fórmula especial), el citado protoplasma aparece constituyendo una elegante malla de trabéculas aplanadas, entre las que se distinguen: *bandas anchas longitudinales* no rigurosamente paralelas, á veces bifurcadas, y provistas de bordes festoneados (fig. 297, *t*), y *trabéculas finas transversales*, nacidas en ángulo recto é insertas á guisa de peldaños de escalera, en las citadas bandas longitudinales. Al nivel de las cisuras de Lanterman, conforme Nemiloff y Nageotte han descrito, destacan recias trabéculas circulares de sección triangular (fig. 297, *a*). Este cerco no penetra, sin embargo, como dice Nemiloff, en el espesor de la cisura. Ancha placa de protoplasma granuloso, punto de convergencia de las bandas longitudinales, forma la región perinuclear (figura 297, A). En fin, cerca del disco de soldadura las trabéculas se anastomosan, fundiéndose y continuándose en fondo de dedal (fig. 297, D, C). En nuestros preparados no aparecen las anastomosis, dibujadas por Nageotte, entre el protoplasma de dos células de Schwann inmediatas.

Fig. 294.—Aparato de Golgi de las fibras de Remak.—*a*, cordones situados en un polo; *b*, cordones situados lateralmente.

Aparato endocelular de Golgi.— Señalado primeramente por nosotros (1912), no falta en ningún tubo nervioso. Conforme mostramos en la figura 298, *b*, reside en torno del núcleo, precisamente en el espesor del macizo protoplásmico donde convergen las bandas longitudinales, y afecta la forma de placa reticulada, compuesta de grumos y cordones varicosos, en gran parte longitudinales. Hay núcleos provistos de dos alas reticuladas contrapuestas (fig. 298, B y C); pero los hay también cuyo aparato de Golgi se extiende casi exclusivamente por un lado (A).

c) *Mielina.* — Es una materia oleaginosa, sumamente refringente, dispuesta en espesa cubierta en torno del cilindro-eje. En los tubos nerviosos vivos, la capa de mielina es homogénea y de

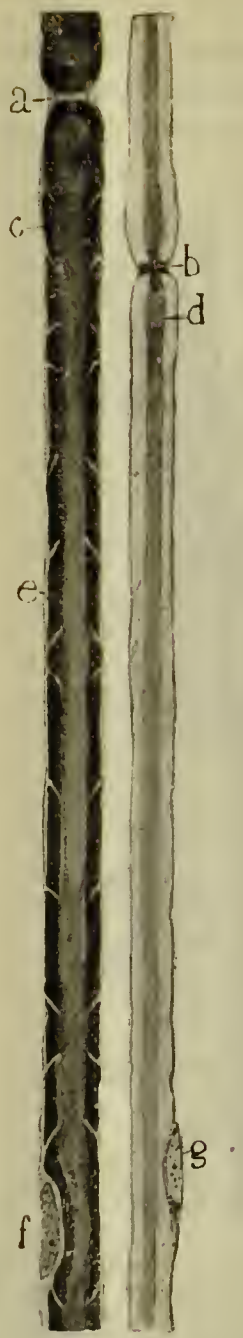

Fig. 295.—Dos tubos nerviosos medulados, uno teñido por el ácido ósmico y otro (el de la derecha) impregnado por el nitrato de plata.—*a*, estrangulación; *b*, disco de soldadura ennegrecido por el nitrato argéntico; *d*, axon; *f*, *g*, núcleos; *e*, segmento cilindro-cónico.

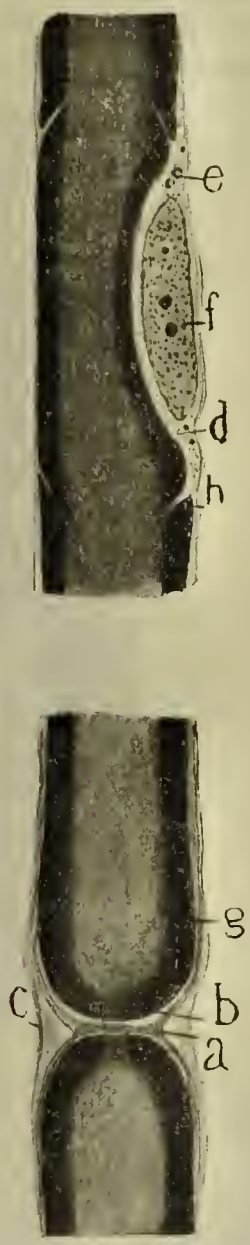

Fig. 296. — Detalles del tubo nervioso teñido por el ácido ósmico. — *a*, disco de soldadura unido á la membrana de Schwann; *b*, cabo de la mielina; *c*, vaina de Retzius; *f*, núcleo; *d*, protoplasma perinuclear; *e*, esférulas de grasa de Erzholz; *h*, cisura de Lantermann.

bordes correctos; mas después de la muerte, esta materia se coagula, afectando la forma de grumos irregulares (anillos, hilos, redes, etc.), que prestan al tubo nervioso aspecto tortuoso y moniliforme (fig. 295, *c*).

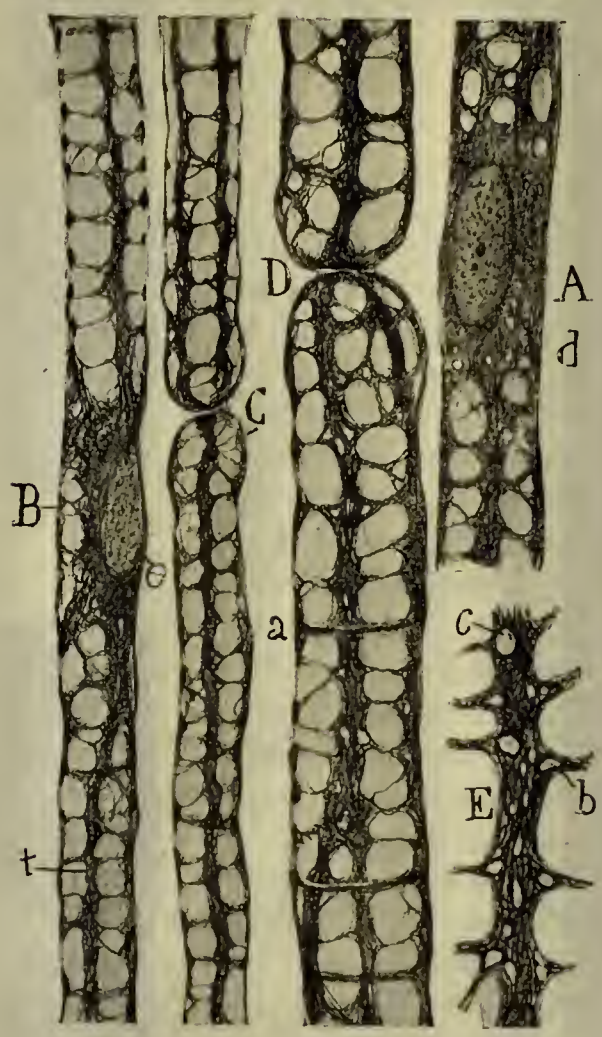

Fig. 297. — Tubos disociados del nervio ciático (gato adulto). Impregnación argéntica. — A y B, región protoplásmica vecina del núcleo; D, tubo grueso al nivel de una estrangulación; C, tubo fino; E, trabécula longitudinal notablemente aumentada; *a*, aros al nivel de las cisuras de Lantermann; *b*, vacuolas en el arranque de los filamentos transversales del velo tubular; *c*, gran vacuola; *e*, núcleo; *t*, trabécula longitudinal.

El alcohol y el éter, disolviendo la substancia grasa, dejan en la mielina un armazón reticulado resistente á los reactivos y á la digestión artificial, que algunos autores califican de *armazón*

de *neurokeratina*. Verosímilmente la disposición reticulada es un efecto de los reactivos.

La mielina ofrece dos clases de interrupciones: interrupciones grandes, transversales, que corresponden á los discos ó placas de cemento (fig. 295, *a)*, y discontinuidades finas, oblícuas, muy numerosas, que han sido designadas *cisuras de Schmidt* ó de Lantermann (fig. 296, *h)*.

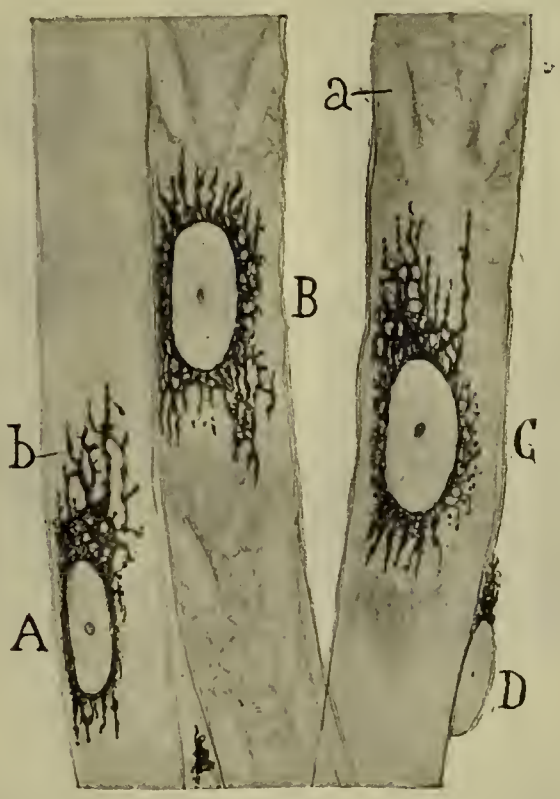

Fig. 298.—Tubos nerviosos del conejo de tres meses.—A, B, C, aparatos reticulares de Golgi; *a*, cisuras de Lantermann; *b*, cordones del aparato endocelular; D, célula conectiva intersticial, con retículo endocelular polar.

Las *cisuras* de Lantermann son circulares y fragmentan la mielina de cada segmento inter-anular en una serie de cilindroconos superpuestos é imbricados. La materia de estas estrías es clara en las preparaciones tratadas por el ácido ósmico; pero, en ciertas condiciones, se tiñe en negro por el nitrato de plata, por lo que algunos autores (Koch, Schiefferdeker, etc.), la con-

sideran como un cemento de unión permeable á los líquidos nutritivos, y análogo al de los discos transversales. En el espesor de este cemento residiría, según Golgi y Rezzonico, un aparato infundibuliforme constituído por un hilo elástico, espi-

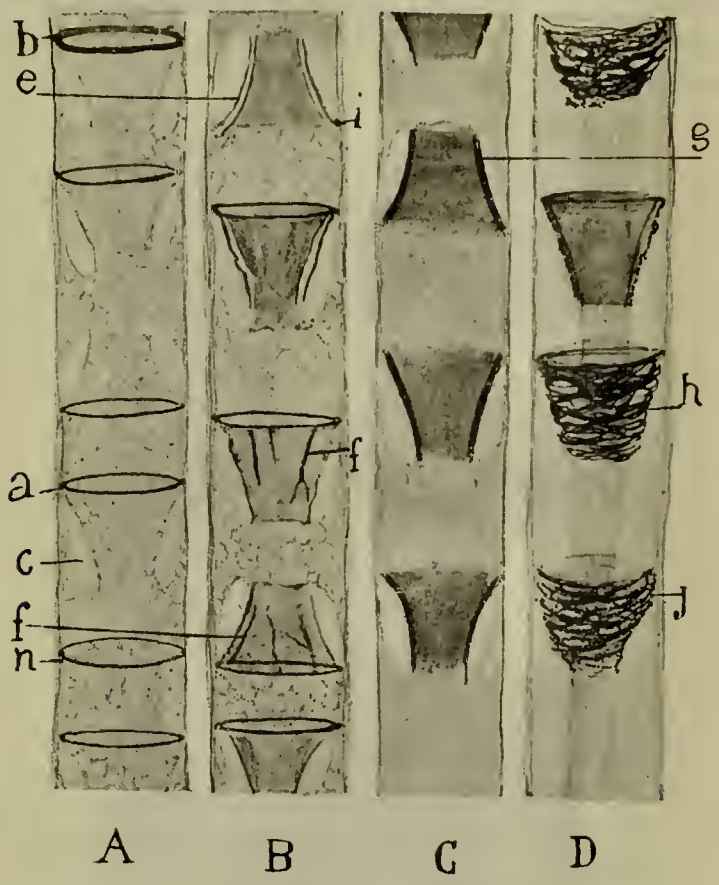

Fig. 299. — Diversos efectos de coloración provocados en los tubos nerviosos por la reducción argéntica de preparaciones fijadas en el formol-urano. - A, reacción común mostrando los anillos exclusivamente; *a*, anillos situados enfrente de las cisuras de Lantermann; *b*, anillos gruesos; *c*, cisura de Lantermann; *n*, anillo alejado de las estrangulaciones; B, reacción menos frecuente, en que los anillos se tiñen en negro y las membranas de las cisuras en amarillo ó pardo claro; *i*, el anillo en sección óptica; *e*, membrana del infundibulo; *f*, tiras obscuras que parecen reforzar la membrana; C, tubos en que sólo se ha coloreado la membrana de las cisuras; *g*, J, *h*, infundíbulos exclusivamente impregnados; D, tubos que presentan con más ó menos claridad el aparato de Rezzonico. (El nervio provenía del gato adulto).

roideo. Gedoelst, en cambio, niega la existencia de esta espira, y admite unos puentes verticales que, pasando á través de la cisura, pondrían en comunicación ciertas redes que, según este

autor, constituirían la trama de mielina. Tales puentes y otras disposiciones descritas por ciertos autores, nos parecen productos artificiales debidos á la acción de los reactivos indurantes. En los preparados en que las materias grasas de la mielina han sido disueltas, las cisuras de Lantermann se presentan como embudos granulosos colorables por la hematoxilina (figura 299, *g)*.

Los estudios de Nageotte (1910), en gran parte confirmados por nosotros (1912), revelan que el aparato de Rezzonico consta, no de un hilo espiral, sino de un plexo de filamentos anastomosados, en gran parte transversales (fig. 299, J).

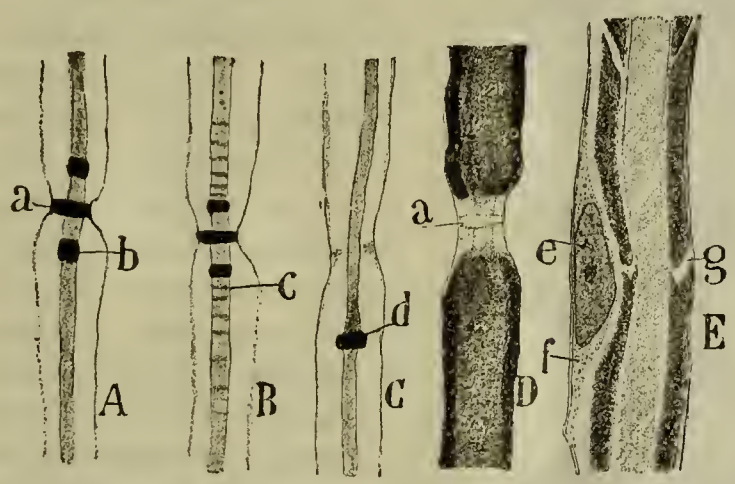

Fig. 300. — Detalles de los tubos nerviosos medulados. — A, B, C, tubos tratados por el nitrato de plata; D, E, tubos coloreados por el ácido ósmico; *a*, disco de cemento; *b*, *c*, estrias de Fromann; *e*, núcleo; *g*, cisura de Lantermann.

Por lo demás, un análisis penetrante de las cisuras de Lantermann revela en ellas textura bastante compleja (fig. 299). En nuestro sentir, este aparato contiene: 1.°, un anillo elástico coloreable en ciertas condiciones por el nitrato de plata (según notaron hace tiempo Schiefferdecker y Segall), anillo residente en el punto de unión de la cisura con el protoplasman de Schwann (fig. 299, *a)*; 2.°, cierta ganga ó cemento coloreable en pardo claro por algunas fórmulas de impregnación argéntica, dentro del cual reside el anillo citado y aparato de Rezzonico (fig. 299, *g)*; 3.°, el sistema espiral de este autor, constituído, según dejamos dicho, por una red de hebras, en gran parte transversales (fig. 299, *h)*; 4.°, en fin, una cavidad plasmática situada entre las paredes del cemento y la superficie de los cilindros-conos de mie-

lina inmediatos (fig. 299, *c)*, cavidad que en ocasiones dilatan notablemente los reactivos fijadores.

Como mostramos en la figura 299, *n*, los anillos de Segall encuéntranse también en parajes del tubo ajenos á los infundíbulos. Esto refuta la opinión de aquellos autores para quienes los anillos representarían simplemente el contorno periférico del cemento de las citadas cisuras (fig. 301, *c)*.

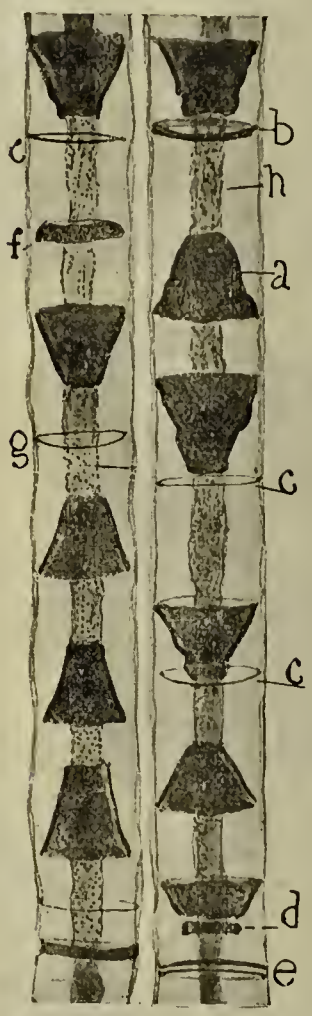

Fig. 301.—Tubos nerviosos del conejo adulto impregnados por la plata, previa fijación en una solución de formol-piridina-manganeso.—*a*, membrana del infundíbulo enérgicamente teñida; *b*, cinta anular; *d*, una cinta situada profundamente; *e*, doble anillo independiente; *c*, *g*, anillos libres situados fuera de las estrangulaciones; *h*, axon; *f*, banda infundibular estrecha.

d) *Vaina de Mauthner.* — En torno del cilindro-eje y debajo de la mielina existe una capa de líquido transparente, en el cual los reactivos producen precipitaciones protéicas. Este líquido representa un plasma de nutrición del cilindro-eje y se comunica con el interior de un modo indirecto á través de las cisuras de Lantermann y de los discos transversales (fig. 303, *d)*.

e) *Cilindro-eje.*— Así se designa la expansión celular nerviosa que ocupa el centro del tubo medular y sirve como de hilo de collar para los segmentos inter-anulares. Su forma es cilíndrica y uniforme; su superficie es lisa y su consistencia semiblanda, como lo prueban las deformaciones que dicha fibra sufre tras la menor presión ó estiramiento. Al nivel de las estrangulaciones de Ranvier, el cilindro-eje atraviesa por el centro del disco transversal de cemento, disco cuyo objeto parece ser el mantener la posición axial de la fibra y aislarla de la membrana de cubierta (figuras 301, *h*, y 302, *d)*.

En estado fresco, el cilindro-eje aparece pálido, finamente granuloso y con estriaciones longitudinales que indican una textura fibrilar. El nitrato de plata lo tiñe en negro ó moreno, pero no de un modo uniforme, sino en bandas alternadas con espacios claros. Estas bandas negras, llamadas *estrías de Fromann,* no preexisten en el tubo nervioso fresco; así que pudiera suceder que se tratara, como imaginan algunos, de meros depósitos argentico-orgánicos, motivados por la acción coagulante y alterante del reactivo (figura 300, *c).* De ordinario, una de las estrías ó depósitos de Fromann es más espesa y obscura que las otras (figura 300, *b).*

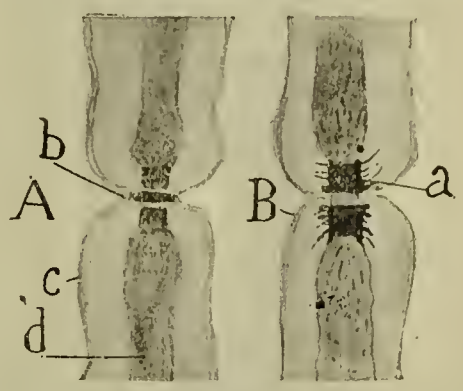

Fig. 302. — Estrangulación de los tubos nerviosos. — A, impregnación argéntica común en soluciones argénticas diluídas y obrando poco tiempo; B, impregnación por reducción en tubos fijados en la mezcla formol-piridina-manganeso; *a,* brazaletes espinosos de Nageotte; *b,* disco de Ranvier; *d,* axon; *c,* membrana de Schwann.

Brazaletes de Nageotte.— A favor de un método especial (1910 á 1911), Nageotte observó cerca de las estrangulaciones y rodeando estrechamente al axon, unos aros envolventes de la cutícula periaxónica, de los cuales parten hacia fuera ciertas crestas paralelas que parecen servir de punto de inserción á las hoyuelas de mielina. Merced á cierta fórmula de nitratación argéntica, nosotros hemos confirmado este hallazgo, de que presentamos copia en la figura 302, *a.* Por debajo de los brazaletes describe también Nageotte una membrana, coloreable por el azul de metileno, la cual nos parece corresponder á la cubierta misma del axon *(Innenscheide* de Bethe), de la que representa un refuerzo.

Coloreado por los métodos de Bethe, Simarro, Bielschowsky y nuestro, el axon muéstrase formado por un haz de neurofibrillas sumamente próximas, según se expuso más atrás. Entre ellas reside una substancia finamente granulosa que no atrae los reactivos colorantes, llamada *neuroplasma.* En torno del cilin-

dro-eje aparece fina película hialina, continuación de la membrana fundamental de la neurona. Sobre si las neurofibrillas del axon son independientes durante su trayecto dentro del tubo ó

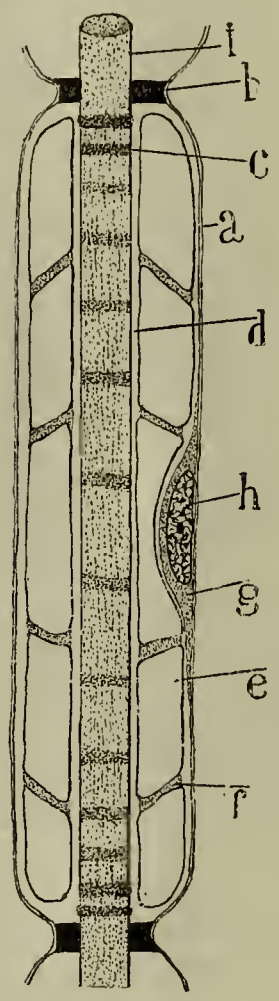

Fig. 303. — Esquema de un tubo nervioso medulado. — *a*, vaina de Schwann; *b*, disco transversal; *c*, estría de Fromann; *d*, vaina de Mauthner; *e*, cilindros-conos de mielina; *f*, cisuras de Lantermann; *h*, núcleo; *g*, protoplasma que envuelve el núcleo; *i*, cilindro-eje.

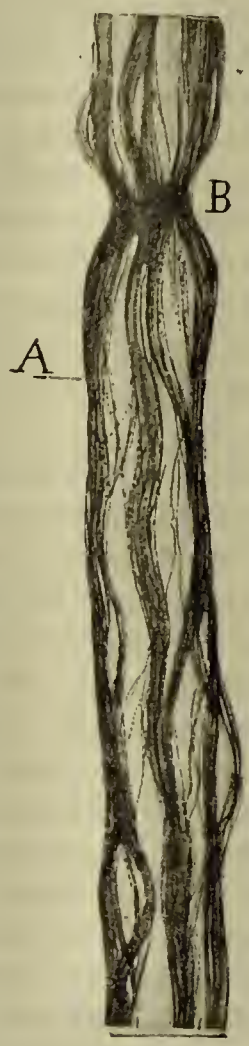

Fig. 304. — Tubo nervioso de gato adulto. Impregnación argéntica tras la fijación en piridina-formol. — A, haces peritubulares; B, región de la estrangulación.

se anastomosan entre sí mediante tenues trabéculos oblícuos ó transversales (Retzius, Marinesco, etc.), nada definitivo cabe afirmar. Recordaremos solamente que en los aparatos termina-

les cada rama nerviosa contiene realmente una red neurofibrillar interior. En el esquema 274 presentamos gráficamente el contraste de aspecto existente entre las neurofibrillas del axon de una parte y las del soma y arborización terminal de otra.

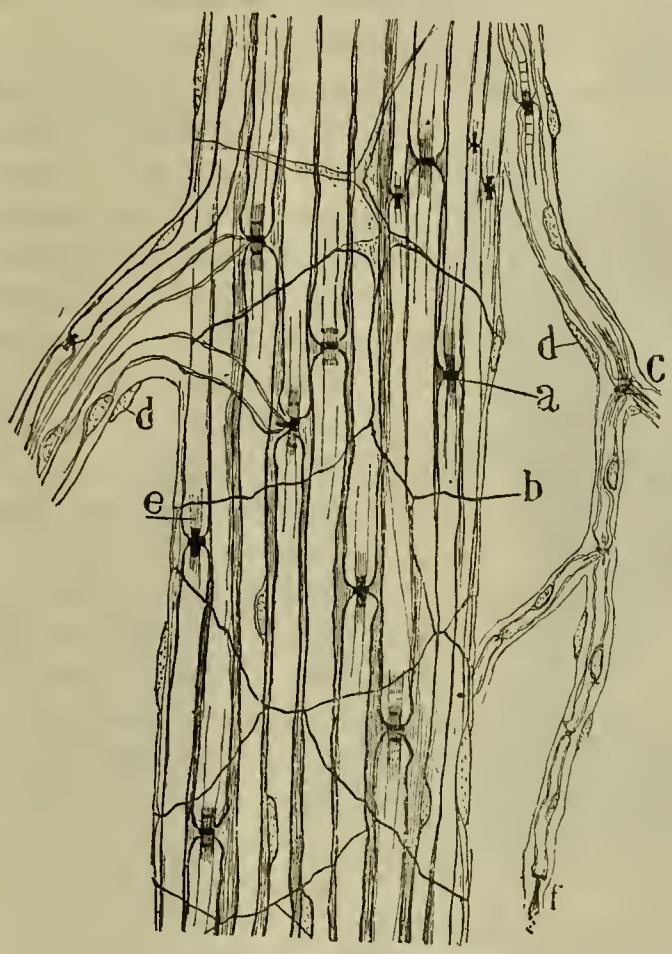

Fig. 305. — Nervio de rana teñido por el nitrato de plata. — *a*, disco de soldadura y estrangulación; *b*, líneas del endotelio que envuelve el haz nervioso; *e*, cilindro-eje coloreado por el nitrato de plata; *c*, división de un tubo nervioso.

Asociación de las fibras en los nervios. — Los tubos medulados se asocian en haces individualizados por una membrana laminosa (*vaina laminosa* de Ranvier, *perineuro* de Key y Retzius), de aspecto estriado y compuesta de varias hojas conectivas concéntricas, entre las cuales y revistiendo ciertos huecos anulares que resultan, habitan células endoteliales. La impregnación ar-

géntica revela limpiamente los contornos de estas últimas, como puede verse en la figura 305, *b*. Entre los tubos nerviosos de cada haz se hallan ciertos corpúsculos mesodérmicos fusiformes y provistos de largas expansiones divergentes, las cuales separan las fibras nerviosas, impidiendo los contactos. La trama de hilos brillantes y no anastomosados resultante del entrecruzamiento de dichos apéndices neuróglicos, ha sido tomada por Ranvier como un tejido conectivo modificado, aunque igual en el fondo á la variedad laxa *(tejido conectivo intrafascicular* de Ranvier (fig. 306, *c)*.

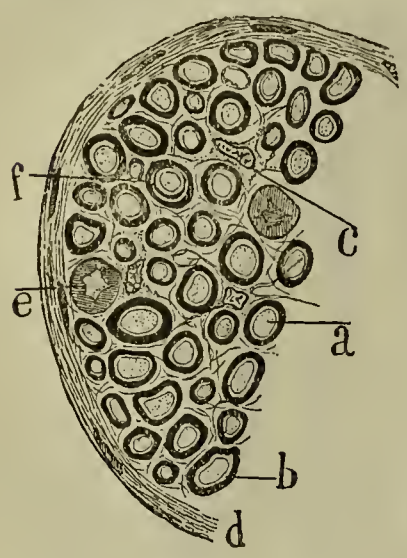

Fig. 306.— Corte transversal de un fascículo nervioso. Coloración con ácido ósmico. — *a*, cilindroeje; *b*, mielina; *c*, célula conectiva intersticial; *e*, corte de un tubo al nivel ó cerca de la estrangulación; *d*, vaina laminosa.

Tejido conectivo peritubular ó vaina de Retzius. — Los preparados del nitrato de plata reducido, revelan que, además de dichas células conectivas, existen entre los tubos nerviosos finas hebras y hacecillos colágenos comparables á los del tejido citógeno. Estos hacecillos, en gran parte paralelos á los tubos, se aplican á veces tan íntimamente á la membrana de Schwann que forman en torno de ésta una especie de cubierta fibrilar de refuerzo (*membrana* de Retzius). Semejante disposición aparece claramente en la figura 304, A, donde se advierte que la citada capa colágena se deprime al nivel de las estrangulaciones, marcando perfectamente su posición (B).

Los nervios pequeños están constituídos exclusivamente por un haz, y aparecen rodeados por la vaina laminosa citada; pero los cordones nerviosos robustos constan de varios haces, entre los cuales se ven tabiques de tejido conectivo laxo, ricos en vasos sanguíneos. Alrededor del nervio existe una membrana conectivo-vascular, continuada con la *pia mater*, y conocida con el nombre de *neurilema*.

CAPÍTULO XXII

TERMINACIONES NERVIOSAS MOTRICES Y SENSITIVAS

El origen de las fibras nerviosas ha quedado indicado anteriormente; es siempre el cilindro-eje ó expansión de Deiters de un corpúsculo nervioso. La terminación es también substancialmente idéntica en todas ellas, verificándose á favor de ramificaciones libres, varicosas, exentas de mielina y superpuestas, ora á células glandulares, ora á corpúsculos epiteliales, bien á otros elementos ganglionares. En unos casos, la ramificación nerviosa aparece desnuda, poniéndose directamente en contacto con los elementos (células glandulares, epiteliales de la piel); en otros, las ramillas terminales están guarnecidas y protegidas por aparatos especiales (corpúsculos de Krause, Pacini, etc.).

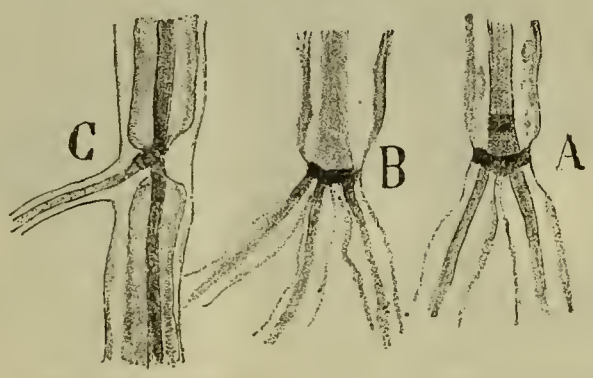

Fig. 307. — Detalles de la división de los tubos nerviosos medulados.—A, división en Y; B, génesis de tres fibras; C, brote colateral de una rama.

Marcha de los tubos nerviosos hacia su terminación. — En general, toda fibra nerviosa medulada próxima á su terminación, se aparta del haz de que formaba parte, llevándose consigo una hojuela homogénea, continuada con la vaina laminosa y destinada á reforzar la membrana de Schwann.

Esta fina cubierta adventicia yace á distancia de la vaina de Schwann, y ha sido designada por Ranvier *vaina de Henle*. En

su espesor contiene, de trecho en trecho, unos núcleos alargados (figura 305, *d*).

El tubo nervioso propiamente dicho se ramifica repetidamente, engendrando, ya por división en Y, ya en T, ramas hijas sucesivamente más delgadas; tales divisiones se verifican constantemente al nivel de las estrangulaciones, advirtiéndose que los segmentos inter-anulares de los nuevos tubos son cada vez más cortos y estrechos (fig. 307). Al abordar la fibra el corpús-

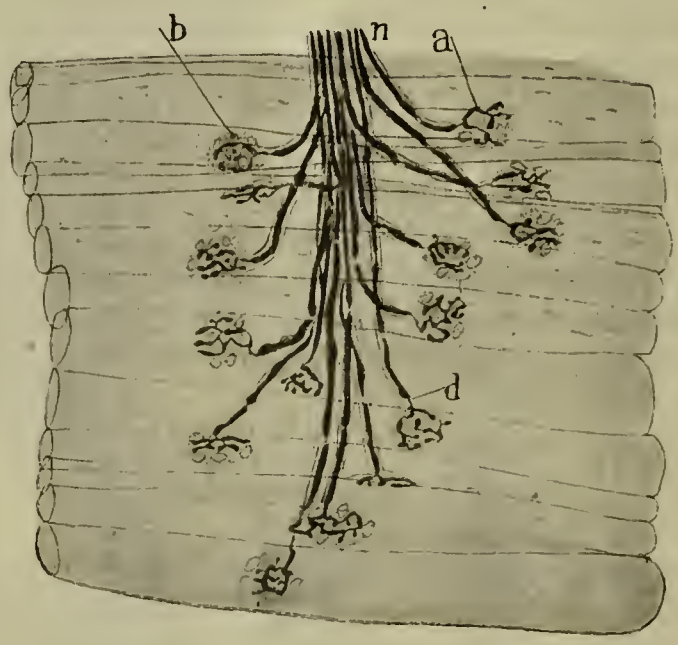

Fig. 308. — Placas motrices de un trozo de músculo intercostal de conejo. — *a*, arborización terminal del cilindro-eje; *b*, núcleos y materia granulosa; *d*, punto en que cesa el forro de mielina; *n*, nerviecito.

culo ó el aparato terminal á que va destinada, pierde primeramente la vaina de Henle, que se continúa con la cubierta del corpúsculo inervado, abandona después la corteza de mielina y la cubierta de Schwann, y reducida á un cilindro-eje desnudo se dilata en una ramificación varicosa terminal ó se prolonga en un simple tallo acabado por un engrosamiento. En ocasiones, la rama final desnuda posee un carácter de colateral y brota, como se ve en la figura 307, C, al nivel de una estrangulación.

Las terminaciones nerviosas se dividen en cuatro clases: *motrices, sensitivas, glandulares* y *sensoriales*.

1.° **Terminaciones motrices.** — Tienen lugar, ora en los músculos de la vida de relación, ora en los de la vida orgánica. A los primeros van á parar los tubos nerviosos nacidos en las células de las astas anteriores de la médula; en los segundos acaban fibras procedentes de las células del gran simpático.

a) *Terminaciones en las fibras musculares estriadas.* — En el punto donde se ramifica la fibra nerviosa, el haz muscular exhibe una placa redondeada, granulosa y sembrada de núcleos

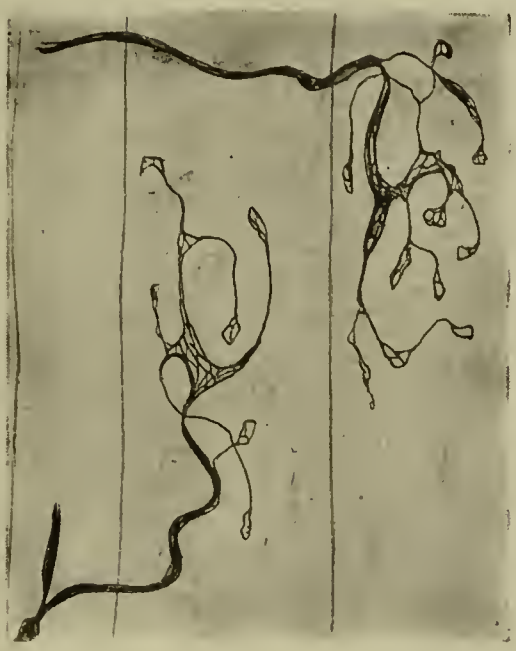

Fig. 309. — Placa muscular del conejo. Neurofibrillas de las ramas terminales. (Método del nitrato de plata). (Según Tello).

(placa motriz, colina de Doyère). Esta placa representa un resto de protoplasma muscular, todavía no convertido en material estriado, y sus conexiones son, por fuera, el sarcolema, y por dentro, la substancia estriada. El tubo nervioso aborda oblicua ó perpendicularmente la placa motriz, sobre la cual en algunos casos se bifurca, engendrando dos nuevas ramitas medulares; la rama ó ramitas terminales, pierden la mielina y vaina de Schwann, penetran en el espesor de la placa y se resuelven en una arborización corta, de ramos gruesos, varicosos, á menudo

divididos en ángulo recto y costeados por núcleos especiales *(núcleos de la arborización)*. Los cabos de tales ramúsculos se muestran á menudo engrosados y no traspasan nunca los límites de la materia granulosa ni tocan jamás la substancia estriada (fig. 308, *b)*.

En los mamíferos, la placa, así como la arborización nerviosa terminal, son muy pequeñas; en los reptiles ambas alcanzan

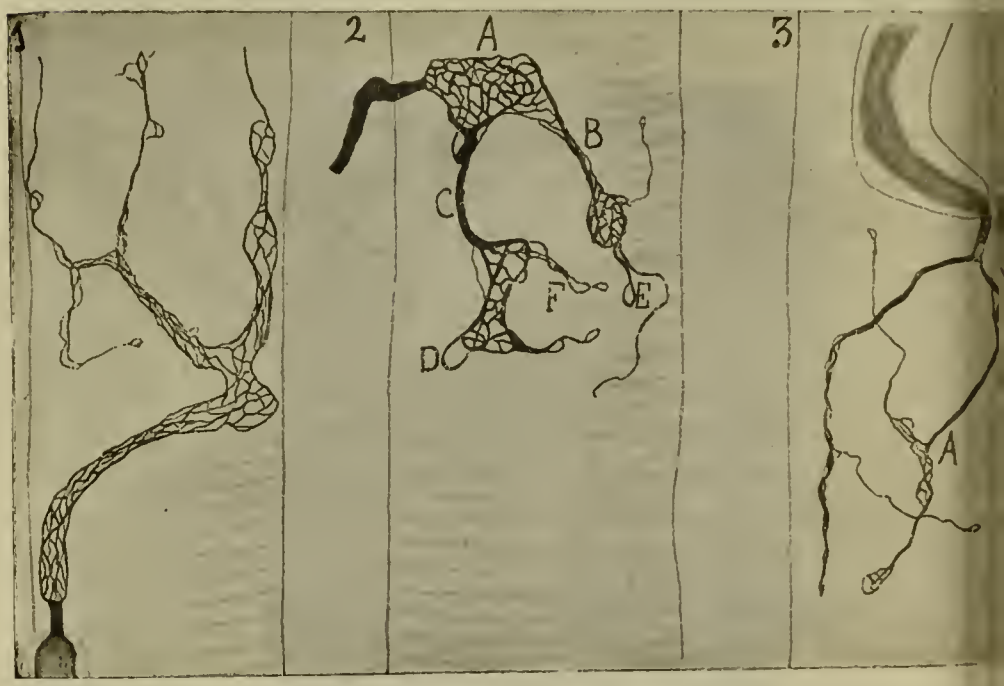

Fig. 310. — Placas motrices del músculo intercostal del conejo. Diversos tipos.—1, tipo intermedio; 2, tipo de gruesas varicosidades; 3, tipo de escasas varicosidades; A, engrosamiento inicial; B, puente de unión reticulado; C, ídem homogéneo; D, asa formada por una neurofibrilla; E, fibra terminal que sólo tiene una neurofibrilla; F, ídem con varias; A, retículo en una división. (Según Tello).

mayor tamaño, presentando la substancia granulosa un contorno desigual y como escotado; finalmente, en los batracios falta por completo la materia granulosa y la arborización nerviosa terminal se extiende en larguísimas ramitas más ó menos paralelas á la fibra muscular (1). Sobre estos tallos pálidos finales yace algún núcleo prolongado (fig. 311).

(1) *Cajal:* Observaciones microscópicas sobre las terminaciones nerviosas en los músculos voluntarios. Zaragoza, 1881.

Nuestras investigaciones con el nuevo método de coloración del nitrato de plata enseñaron que cada ramo terminal de la arborización motriz contiene un haz de neurofibrillas, el cual se deshilacha ó afloja al nivel de las varicosidades y se termina por redes y asas intraprotoplásmicas, según se echa de ver en la figura 309. Parecida composición ha encontrado recientemente Tello (1905) en las placas motrices y arborizaciones sensitivas de diversas especies de mamíferos, y Boeke (1910), Botezat (1910), Aoyagi (1912), que han empleado para sus pesquisas el método de Bielschowsky. Adviértese que las ramas más finas acaban en asas ó anillos (Tello), mientras que las gruesas terminan mediante bulbos reticulados. Un neuroplasma abundante aparta las neurofibrillas de las varicosidades y cabos finales, prestándoles singular perceptibilidad. En la figura 310 mostramos algunos tipos de placas observados en el conejo por Tello, en preparaciones del nitrato de plata reducido.

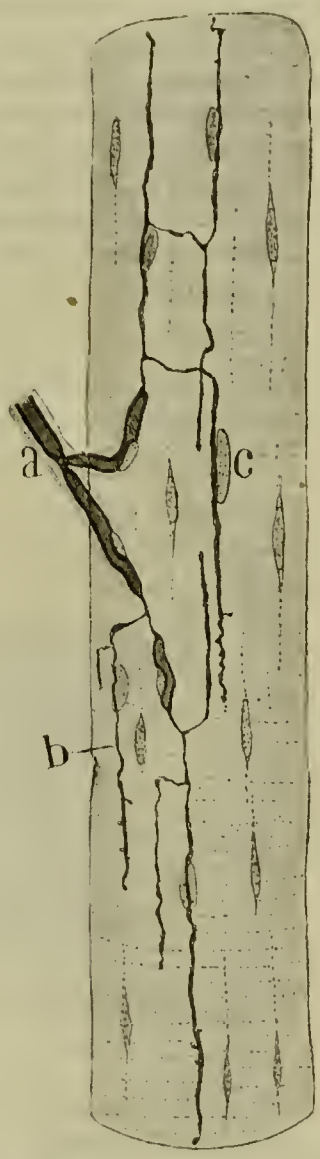

Fig. 311. — Arborización nerviosa terminal de una fibra muscular de rana. Coloración por el cloruro de oro. — *a*, tallo nervioso medulado; *b*, fibras terminales sin mielina; *c*, núcleo de la arborización.

Los trabajos modernos acerca de la placa muscular, añaden poco á la concepción clásica de esta terminación nerviosa. Mencionemos solamente dos detalles: las *ramas ultraterminales* de Ruffini y la *fibra accesoria* de Perroncito y Boeke.

Fibras ultraterminales. — Con el nombre de fibras ó *ramas ultraterminales* ha descrito Ruffini en los músculos del hombre una ramilla que, naciendo de la arborización de una placa motriz, dirígese á otra fibra muscular ve-

cina, donde acaba por una ramificación rudimentaria. Semejante disposición es real, según comprueban las investigaciones de Perroncito, Cecherelli y Tello; pero resulta harto inconstante y como patológica. Músculos hay donde en cientos de placas no es posible sorprender una sola proyección de este género.

Puesto que las investigaciones de Tello acerca de la regeneración de las placas y las nuestras tocante á la evolución normal de las mismas revelan que, muy á menudo, la arborización terminal motriz recién modelada emite finos retoños, destinados á otros elementos musculares, ¿no podría considerarse la fibra ultraterminal de Ruffini como el mantenimiento eventual de disposiciones embrionarias, destinadas en la mayoría de los casos á desaparecer?

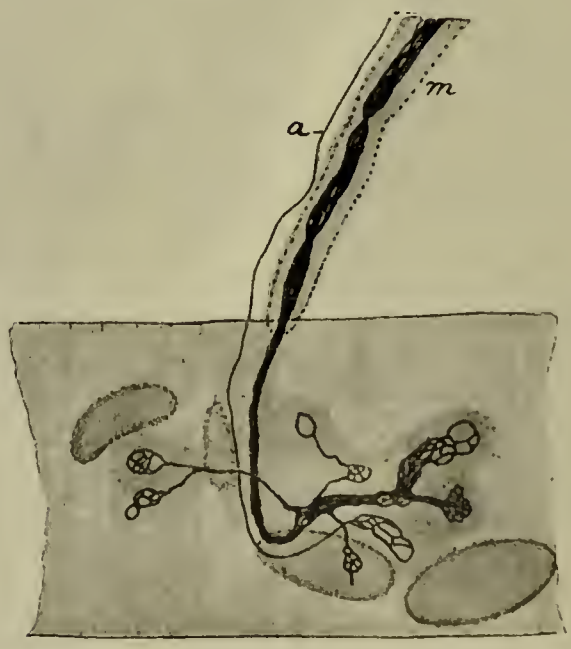

Fig. 312. — Arborización terminal en las placas motrices del lagarto, formada por fibra principal y fibra accesoria. (Según Boeke).

Fibras finas accesorias de la placa motriz. — Según mostramos en la figura 312, tomada de un trabajo de Boeke (1910), la placa motriz ofrece á veces, además de la fibra principal, una fibra accesoria, fina, amedulada, llegada en compañía del tubo grueso y acabada dentro de la misma placa mediante minúscula y rudimentaria arborización *(a)*. Por lo común, como ha mostrado Boeke, redúcese á simple tallo terminal varicoso.

La fibra accesoria fina fué primeramente vista por Perroncito (1902 á 1903) en los reptiles, reputándola por sensitiva, sin acertar á descu-

brir su modo de terminar. Más adelante, Gemelli (1905) la confirmó, señalando sus ramificaciones en las placas y estimándola como emanación colateral del axon principal; mas solamente Boeke ha dado de ella una descripción completa, confirmada en sus líneas generales por Botezat y Aoyagi (1912), este último en el músculo diafragmático. En fin, para Boeke trátase de un conductor simpático amedulado, destinado á reglar el trofismo de la célula contráctil. Ulteriormente (1913) este autor aporta argumento importante contra la naturaleza motriz de la fibra fina, reconociendo que, cuando se seccionan los nervios de los músculos oculares, la placa principal degenera, conservándose incólume la minúscula arborización accesoria.

b) *Terminación de las fibras nerviosas en los músculos lisos* (1). — Las fibras nerviosas destinadas á los músculos lisos son fibras de Remak, nacidas, ya del cordón vertebral simpático, ya de ganglios especiales residentes entre las zonas musculares. Desde los trabajos de Klebs y Arnold, confirmados por Lœwit, Frankenhauser, Ranvier, etc., se sabe que todo músculo liso ofrece tres plexos nerviosos: uno *fundamental* ó supramuscular, situado en la superficie del plano muscular, y constituído por gruesos haces de fibras de Remak, entrecruzados en diversos sentidos, y en cuyas nudosidades ó cruzamientos yace un acúmulo de células ganglionares simpáticas; otro *intermediario,* formado de hacecillos más finos, y emplazado entre los paquetes de fibro-células; y finalmente, otro constituído por hebras finas, independientes y ramificadas, que ocupa el cemento de unión de los corpúsculos contráctiles *(plexo intramuscular ó interfibrilar).*

Las fibras de este último plexo representan cilindros-ejes libres, los cuales marchan de modo flexuoso por entre las fibrocélulas, se ramifican dos ó tres veces en ángulo recto, y sus últimas ramitas, que afectan gran delicadeza y aspecto arrosaria-

(1) La verdadera terminación de las fibrillas nerviosas en los músculos lisos fué primeramente señalada por Arnstein (1887) en la vejiga de la rana, sirviéndose del método del azul de metileno. Con este mismo método la demostramos nosotros también en el intestino y vejiga de los batracios (1888), y últimamente, mediante el de Golgi, en el intestino de los mamíferos. Parecidos resultados á los nuestros han obtenido posteriormente Retzius, Berkley y Müller (véase mi folleto *Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de los mamíferos*, etc., con 13 grabados. Madrid, 1893.

do, acaban á favor de extremos nudosos, sobre el protoplasma contráctil (fig. 313, *a*). Por lo común, como puede verse en la figura 313, cada fibrilla separada de un hacecillo origina, merced á sus ramificaciones, una extensa arborización cuyas ramas, en gran parte paralelas á los intersticios de las fibro-células, pueden tocar un gran número de éstas.

Fig. 313. — Corte paralelo á las fibras musculares circulares del intestino del conejillo de Indias. — A, B, fascículos que venían del plexo muscular profundo; *b*, fibra nerviosa terminal; *a*, últimos ramitos acabados por una varicosidad.

c) *Terminaciones nerviosas en el corazón.* — Se han vertido muchas opiniones, todas hipotéticas, sobre la manera de terminar las fibras de Remak en las células cardíacas de los mamíferos: quiénes, como Ranvier, admiten que los ramúsculos nerviosos ensartan el eje de la materia contráctil; quiénes, como Krause, señalan la existencia de verdaderas placas motrices.

Nuestras observaciones, ejecutadas primeramente con el método de Ehrlich y después con el de Golgi (1891), resuelven, á nuestro modo de ver, definitivamente este punto, demostrando que las fibrillas de Remak se comportan en el corazón lo mismo que en los músculos lisos. Los hacecillos de fibras nerviosas marchan por entre los paquetes de células, disociándose en unos puntos y volvién-

dose á juntar en otros, constituyendo así, y á consecuencia de cambios de elementos con haces vecinos, una red de anchas mallas, ocupadas por grupos de fibras contráctiles. Por último, los hilos elementales se hacen independientes, se ramifican muchas veces sin anastomosarse nunca y acaban por tallitos finísimos y fuertemente varicosos. Cada célula muscular puede ponerse en contacto con una ó varias ramillas terminales, casi siempre flexuosas y dirigidas en el sentido de los corpúsculos contráctiles. Los cabos terminales aparecen, á menudo, guarnecidos de una varicosidad (1). Parecida descripción da Fedele (1910) con relación al corazón de reptiles y batracios.

Terminaciones sensitivas. — Estas terminaciones son tantas y más que los órganos sensibles. Las principales son: las sensitivas musculares, las musculo-tendíneas de Golgi y sus variantes, las terminaciones intra-epidérmicas, las por corpúsculos táctiles especiales y las terminaciones de serosas y vasos.

Terminaciones sensitivas musculares ó husos de Kühne.—Cuando se examinan las diversas fibras de un músculo estriado, llaman la

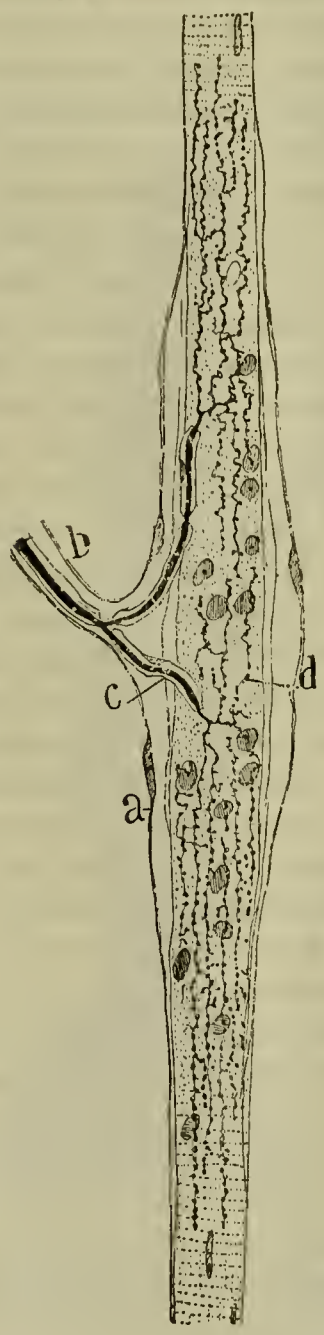

Fig. 314. — Terminación sensitiva muscular del pectoral cutáneo de la rana. Método de Ehrlich.—*b*, fibra nerviosa medulada; *a*, cápsula; *c*, tubo nervioso hijo; *d*, arborización terminal.

(1) Véase mis folletos: *Terminaciones nerviosas en el corazón de los reptiles y batracios (Gaz. sanit. de Barcelona*, núm. 12, 1890).

atención ciertos fascículos primitivos poco numerosos (dos ó tres en el músculo pectoral de la rana), sumamente delgados, y cuya parte central presenta un engrosamiento fusiforme correspondiente á una terminación nerviosa. Estudiando atentamente este engrosamiento se advierten en él tres partes: las cápsulas, las fibras nerviosas y el material granuloso (fig. 314).

Las *cápsulas* (fig. 314, *a*), que habitualmente son dos, consisten en membranas delgadas, tubulares, separadas entre sí por espacios plasmáticos, anchos en el centro del huso, pero que van estrechándose en los extremos de éste, donde aquéllas se juntan y confunden con el sarcolema. La *fibra nerviosa* es muy robusta, y atraviesa las cápsulas, con las que se continúa la vaina de Henle, y una vez sobre el material granuloso, aquélla se divide en dos ó más ramas meduladas que marchan más ó menos paralelamente al haz muscular. Perdida ya la mielina y membrana de Schwann, cada rama nerviosa se resuelve en una riquísima arborización fuertemente varicosa y extendida sobre toda la región granulosa del huso: las más finas ramillas acaban mediante una varicosidad.

Finalmente, el *material granuloso* ocupa todo el espesor del engrosamiento, está sembrado de núcleos y representa un pedazo de fibra muscular, cuyo protoplasma ha conservado sus cualidades embrionarias (fig. 314, *d*).

Los ensayos de coloración que, mediante el azul de metileno, hemos practicado en el músculo pectoral cutáneo de la rana, nos han permitido descubrir en dichas fibras musculares otra terminación nerviosa. Esta terminación se parece en un todo á la motriz, y yace en aquel paraje de los husos musculares, donde la materia estriada no está recubierta por las cápsulas ni por la ramificación sensitiva. Por donde resulta que cada huso muscular mantiene conexión con dos fibras; con la *sensitiva,* arborizada en el engrosamiento capsulado supradicho y destinada á conducir al sensorio noticias tocantes al tanto de contracción del músculo; y con la *motriz* ó centrífuga, en virtud de la cual el huso muscular será también susceptible de contraerse como los demás haces estriados. Parecidos hechos han descrito después de nosotros, en los mamíferos, Kerschner, Rufini y otros

autores. También Tello (1910) ha confirmado la doble terminación haciendo uso de los métodos neurofibrillares.

Órganos musculo-tendinosos de Golgi. — En ciertos tendones, y en la vencindad de las fibras musculares, se ven unos cuerpos fusiformes recubiertos de endotelio y enlazados con una arborización nerviosa sensitiva. Estos cuerpos representan en realidad un haz tendinoso especial, el cual, por una de sus extremidades, se continúa con los fascículos comunes del tendón, y por la otra recibe la inserción de un grupo de fibras musculares estriadas (fig. 315).

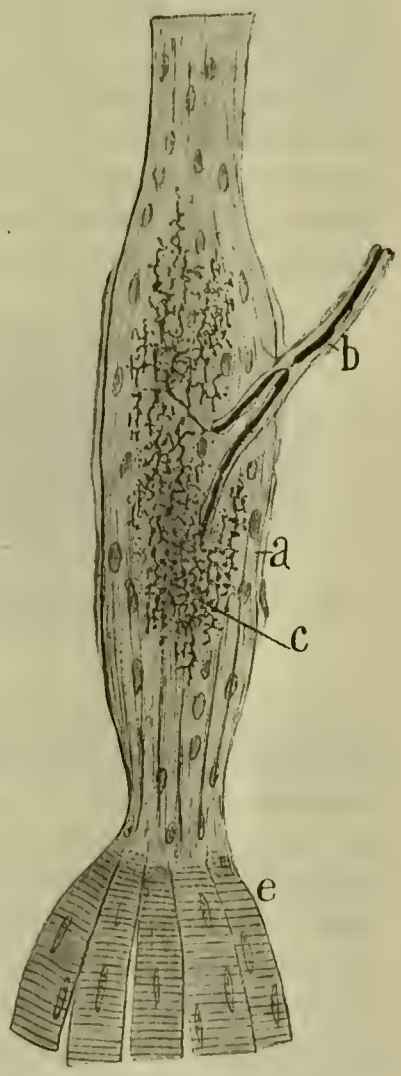

Fig. 315. — Órgano musculotendíneo de Golgi. Coloración por el cloruro de oro.

El tubo nervioso aborda oblicua ó perpendicularmente el cuerpo fibroso susodicho; la vaina de Henle se continúa con la membrana endotelial de éste; y la fibra nerviosa, dicotomizada una ó dos veces, acaba por perder la mielina y por engendrar una extensa y varicosa ramificación completamente libre, y situada en la superficie del huso, por debajo de su cápsula.

Según Ciaccio, las ramillas varicosas y libres de la arborización penetrarían entre los hacecillos fibrosos del huso tendinoso, y constituirían en torno de ellos verdaderas espirales. Finalmente, Dogiel, haciendo uso del método del nitrato de plata reducido, ha reconocido en las asas espirales y ensanchamientos finales, una red neurofibrillar comparable á la notada por nosotros y Tello en las platas motrices (fig. 316).

El oficio de tan singulares terminaciones ha sido muy discuti-

do. Nosotros nos inclinamos al parecer de Ciaccio, quien las considera de naturaleza sensitiva, atribuyéndoselas la misión de noticiar al sensorio del cuánto de estiramiento del tendón durante la contracción del músculo, haciendo así posible, por acción refleja, la adecuación de la energía de éste á la resistencia de aquél.

Órganos terminales de Ruffini. — En diversos gruesos tabiques del tejido conectivo subcutáneo, y singularmente en los separatorios del panículo adiposo de la planta del pie, encuentra Ruffini unas arborizaciones nerviosas que recuerdan algo las musculo-tendíneas de Golgi. Stameni, que las ha confirmado,

Fig. 316. — Detalles de la arborización en el órgano musculo-tendíneo de Golgi, según Dogiel.

describe en ellas: 1.° Una trama conectiva de sostén, compuesta de haces colágenos y fibroblastos. 2.° Cierta materia granulosa salpicada de núcleos. 3.° La arborización nerviosa, bien descrita por Ruffini, dispuesta en floresta ó césped de finas, densas y granulosas ramillas (fig. 317). La masa fibrilar ó de sostén, hállase envuelta en un endotelio continuado con la fibra de Henle del tubo aferente.

Terminaciones en las serosas. — Las investigaciones de Dogiel y de sus discípulos Michailow, Smirnow, Schmidt, Ramström (1808), Martynoff (1914) etc., han puesto de manifiesto la existencia en el endocardio, pericardio, pleura, peritoneo parietal, así como en la cubierta interior del árbol vascular, de dos órdenes de terminaciones sensitivas: 1.° Arborizaciones difusas incapsuladas, dispuestas en guirnaldas ó céspedes de ramas finas granulosas y tan apretadas que parecen montones de esférulas intensamente coloreables por el método de Ehrlich. Estas ter-

minaciones *arboriformes,* según la expresión de Dogiel, se aplanan bajo los endotelios, dilatándose en grande extensión. 2.° Ramificaciones, también muy complicadas y densas, pero cuyas frondas aparecen rodeadas de una cápsula nucleada. Dentro del ramaje adviértense numerosos y complicados glomérulos de ramas nerviosas. Ambas clases de terminaciones parecen continuarse con fibras meduladas y depender de los ganglios nerviosos sensitivos.

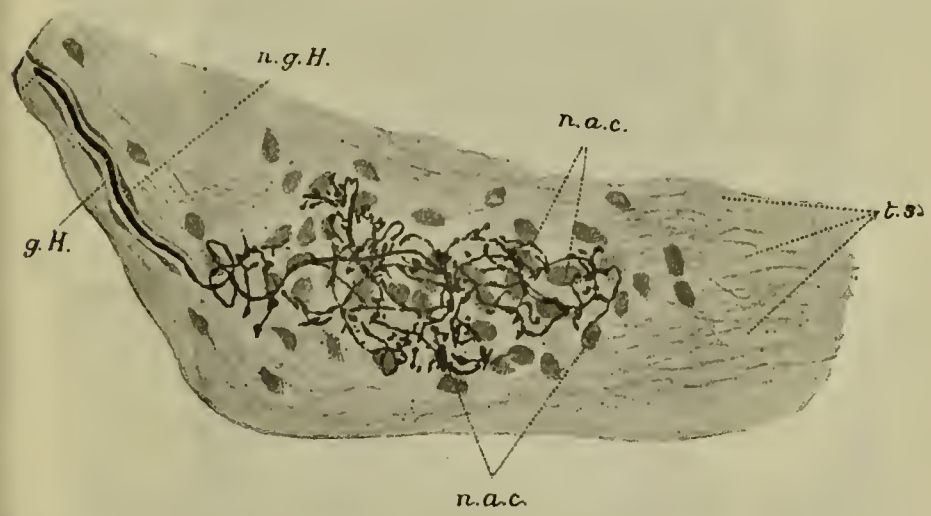

Fig. 317. — Órgano terminal de Ruffini. — *t, s,* tejido conectivo de sostén; *g,* H, vaína de Henle; *n, a, c,* núcleos de la arborización. (Según Stameni).

Terminaciones sensitivas intraepidérmicas. — Este modo de terminación es peculiar de los epitelios pavimentosos estratificados como el de la córnea, piel, esófago, etc.

En la córnea es donde mejor pueden estudiarse tales arborizaciones sensitivas, las cuales se coloran muy bien, tanto con el azul de metileno como con el cloruro de oro. Por la periferia de esta membrana penetran varios tubos medulares, los que, perdiendo á poco trecho la mielina y vaina de Schwann, recorren, bajo la forma de fibras pálidas, el espesor de la córnea, constituyendo, al anastomosarse entre sí, una red de anchas mallas cuyas nudosidades presentan la disposición de pequeños kiasmas (fig. 319, A). Las fibras constitutivas de este plexo son gruesas, marchan en zig-zag, carecen de núcleos y muestran

claramente las hebras axiles que las constituyen envueltas y ligadas por una materia granulosa concretada en gotas, y especialmente ávida del oro y azul de metileno. Desígnase esta red, que yace entre las láminas conectivas de la córnea, con el nombre de *plexo fundamental.*

Los tallos de este plexo suministran ramitas mucho más delgadas, que atraviesan en escalera las capas corneales y, anasto-

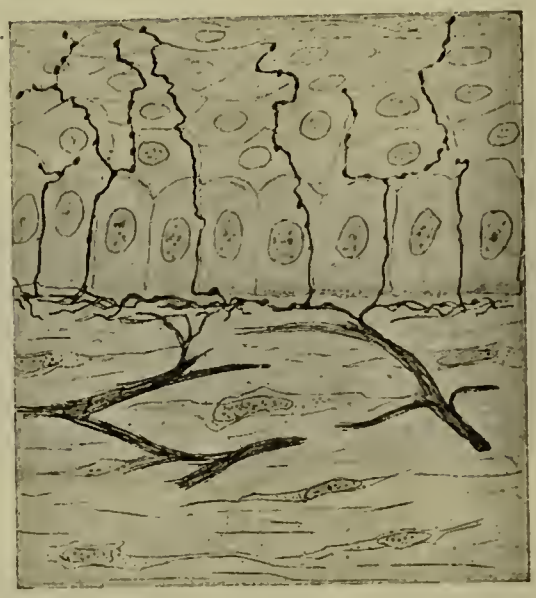

Fig. 318. — Terminaciones nerviosas en el epitelio anterior de la córnea. Coloración por el cloruro de oro.

mosándose entre sí por debajo de la basal, forman una red aplanada mucho más rica y tupida que la anterior, que se ha llamado *plexo sub-basal.* Las trabéculas de esta red son menos flexuosas que las del plexo fundamental, y encierran en sus nudosidades ó pequeños kiasmas, uno ó dos núcleos envueltos en cierta cantidad de materia granulosa (figs. 319, B y 318).

De la red sub basal arrancan fibras sumamente finas y varicosas, formadas, al parecer, de uno ó dos filamentos axiles primitivos. Estas hebras llevan un curso tortuoso, atraviesan la basal, y, entrecruzándose por debajo de los pies de la primera fila de células epiteliales, constituyen un tercer plexo mucho más delicado que los anteriores y exento de núcleos: llámasele

plexo sub-epitelial. Las fibrillas constructoras de este plexo, después de raras ramificaciones, recodan bruscamente, marchan verticalmente por entre las células epiteliales, moldeándose á sus contornos, y rematan, ya entre los elementos de las capas profundas, ya en la misma superficie del epitelio, mediante ligeros engrosamientos ó á favor de una esférula de materia aurófila (fig. 318).

Fig. 319.—Plexos nerviosos de la córnea del conejo, coloreados por el azul de metileno.—A, haz del plexo fundamental; B, núcleo del plexo sub-basal; C, D, ramas intraepiteliales.

En el epidermis de Malpigio de la piel hállanse también parecidas terminaciones. Gruesas fibras meduladas llegan de lo hondo del dermis, bifúrcanse una ó dos veces y en pleno cuerpo papilar las ramas resultantes pierden la mielina y se acercan al epidermis. Antes de penetrar en éste, los cilindros-ejes desnu-

dos se ramifican, y los ramúsculos, cuya dirección es vertical, se insinúan entre las células epidérmicas, subdivídense una ó dos veces y acaban por series de gránulos ó por cabos varicosos situados en las inmediaciones del *stratum granulosum*. En su trayecto intra-epidérmico las fibrillas nerviosas están alojadas en el cemento semi-líquido de unión y no parecen enlazarse con ninguna célula epidérmica (fig. 320, *d)*.

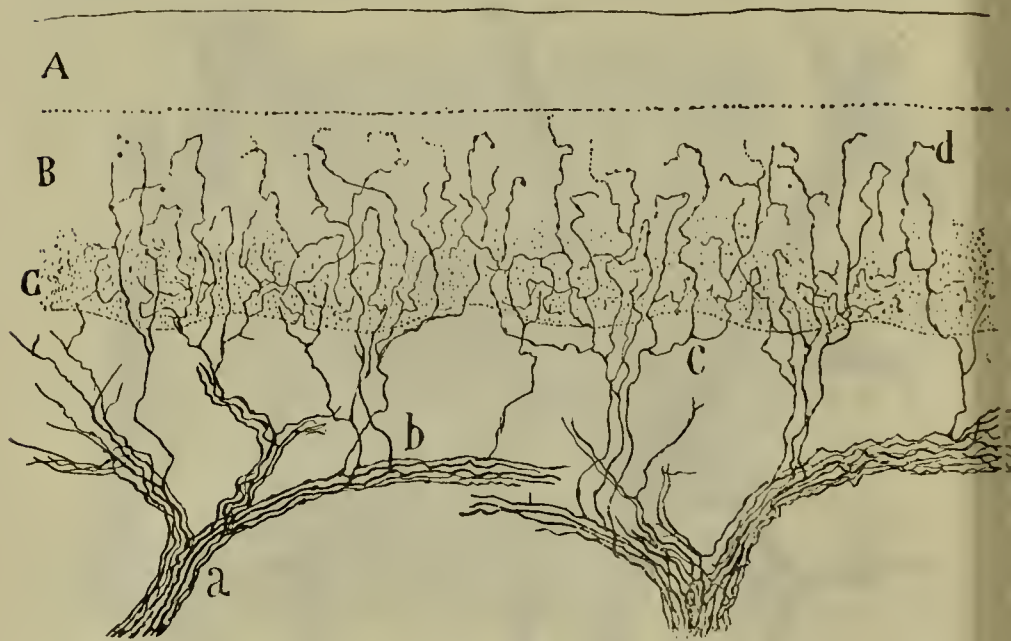

Fig. 320. — Fibras terminales intra-epidérmicas de la planta del pie del perro recién nacido. — A, epidermis córneo; B, cuerpo de Malpigio; C, granos pigmentarios; *a*, manojo nervioso; *b*, bifurcaciones; *d*, últimas ramillas.

Terminaciones parecidas han descrito Retzius en el esófago y mucosas pavimentosas, y van Gehuchten en la piel y mucosas de varios mamíferos.

Como una variedad interesante de terminaciones intraepidérmicas libres, podemos considerar las que Ranvier llamó *terminaciones herediformes,* es decir, las efectuadas mediante dilataciones finales en forma de hoja de hiedra. Descubiertas por Merkel en el hocico del puerco, hállanse también, según demostró Ranvier, en la pulpa digital del hombre. Prefieren las eminencias interpapilares del cuerpo de Malpigio, dentro de las

cuales generan, como mostramos en la figura 321, *a*, racimos de meniscos dependientes de una sola fibra aferente. Cada menisco terminal yace por debajo de un corpúsculo epitélico, á cuyo contorno profundo se moldea.

Corpúsculos de Meissner. — Habitan en las papilas de la piel, particularmente en la cara palmar de los dedos, en el dermis labial, mamelón y órganos genitales externos. Estos corpúsculos afectan figura ovoidea, á veces tuberosa y lobulada, y yacen perpendi-

Fig. 321. — Terminaciones heredi-formes en las prolongaciones interpapilares de la piel del dedo de un niño de pocos días. — A, fibra aferente; *a*, meniscos ó dilataciones terminales situadas debajo de las células epiteliales. (Método del nitrato de plata reducido).

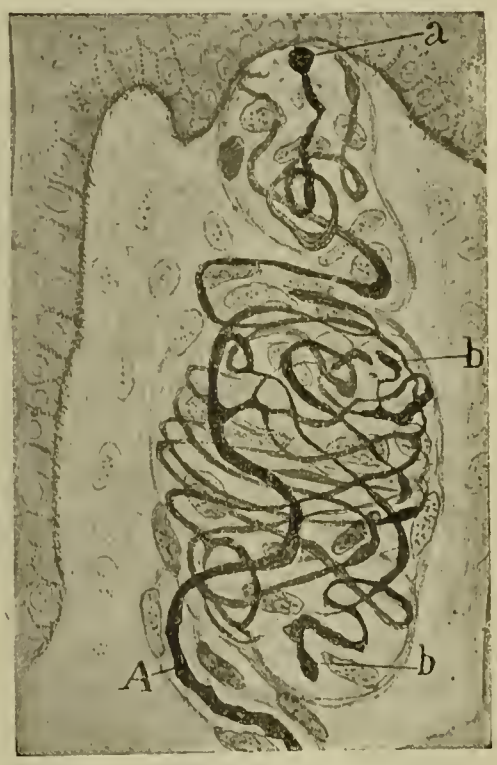

Fig. 322. — Corpúsculo de Meissner de una papila digital. Coloración por el nitrato de plata reducido. — A, fibra aferente; *a*, bulbo terminal debajo del epidermis; *b*, maza final entre las células transversales del corpúsculo.

cularmente orientados en la cima de las papilas, casi tocando el epidermis. No todas las papilas de las referidas regiones las contienen, pues existen algunas (papilas vasculares) provistas exclusivamente de un asa capilar. El diámetro de los corpús-

culos de Meissner es sumamente variable, oscilando entre 30 á 50 μ de longitud por 20 á 30 de anchura (fig. 322).

Constan estos corpúsculos: de una cápsula fibrosa, gruesa y abundante en núcleos, continuada con la cubierta de Henle de las fibras nerviosas aferentes; de una masa central construída de células irregulares ordenadas en pilas verticales apretadas é imbricadas, y cuyos núcleos, alargados transversalmente, prestan al todo aspecto groseramente estriado, y de una ó varias fibras medulares que abordan el corpúsculo á diversas alturas, serpenteando á menudo por encima de la cápsula, y penetrando, perdida ya la mielina, entre las pilas de células, donde forman una rica y complicada arborización. Los ramos terminales son varicosos, caminan transversalmente y acaban por abultamientos lenticulares ó simples engrosamientos irregulares, situados en los espacios cóncavos que separan los corpúsculos centrales. Este modo de terminación por meniscos táctiles recuerda los corpúsculos de Merkel de las aves, que no son en realidad sino una forma más simple y menos irregular de los órganos de Meissner. Dogiel ha teñido recientemente estas arborizaciones con el azul de metileno, mostrando en ellas un número de ramillas terminales varicosas más considerable que el revelado por el cloruro de oro.

Corpúsculos de Pacini. — Son unos cuerpos oblongos, de 1 á 2 milímetros de longitud, que se encuentran en las regiones profundas del dermis de la piel, particularmente en la del pulpejo de los dedos; hállaselos también, aunque en escaso número, en los nervios articulares, en los distribuídos por los huesos, ligamentos interóseos de la pierna y antebrazo, órganos genitales externos, perimisio interno de los músculos, etc. Se componen los corpúsculos de Pacini: de una masa central granulosa, prolongada según el eje mayor del corpúsculo y redondeada por sus extremos, y de una serie de cápsulas concéntricas, verdaderas láminas de tejido conjuntivo, separadas por espacios linfáticos y revestidas en su cara interior por una capa de células endoteliales, cuyos núcleos aplanados forman prominencia hacia adentro. Las cápsulas próximas á la materia granulosa central son más delgadas y están más juntas que las periféricas. La

fibra nerviosa medular aborda el corpúsculo por uno de sus polos, atraviesa las cápsulas, y al llegar á la substancia granulosa pierde la mielina y la membrana de Schwann. El cilindro-eje, después de recorrer casi toda la longitud de la materia granulosa pálida, termina en el espesor de ésta por ligera intumescencia. La membrana de Henle que acompaña al tubo nervioso, y que, por cierto, es sumamente gruesa, se continúa con diversas cápsulas conectivas (fig. 323, *a*).

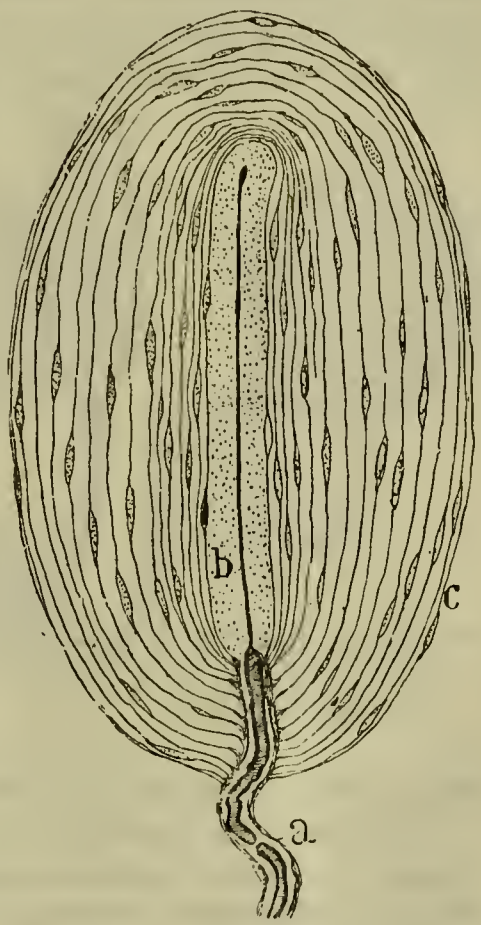

Fig. 323. — Corpúsculo de Pacini del hombre. — *a*, vaina de Henle del tubo nervioso; *b*, materia granulosa central; *c*, cápsulas.

Las investigaciones de Dogiel, Botezat, van der Velde, etcétera, efectuadas con los métodos neurofibrillares, han revelado que la maza final y ramos accesorios del axon aferente, contienen redes neurofibrillares complicadas.

Con relación á la cápsula, corrige Dogiel (1910) la vieja opinión según la cual los núcleos capsularss corresponderían á corpúsculos endotélicos. En su sentir, dichos elementos son frecuentemente estrellados y poseen expansiones finas que, anastomosándose, generan en cada lámina el armazón fibrilar tupido descrito por Ranvier. El retículo de cada capa fibrosa podría continuarse con el de las vecinas al través del líquido intercapsular. En fin, Dogiel y Michailow (1909) han observado que el eje granuloso del aparato terminal contiene, hasta más arriba de su mitad, una red de finos capilares, penetrantes por el pedículo.

Corpúsculos de Krause. — Aparatos más sencillos y menos voluminosos que los de Pacini, están situados, de ordinario, en

el dermis de la conjuntiva, mucosa lingual, órganos genitales externos, etc. El tamaño de estos corpúsculos oscila entre 40 y 50 μ de longitud por 20 ó 30 μ de anchura.

Desde el punto de vista estructural se conocen dos variedades de corpúsculos de Krause. La variedad más simple se compone: de una cápsula conectiva, expansión de la vaina de Henle; de una masa granulosa interior, prolongada en forma de maza, y de una fibra nerviosa aferente que, desnudándose de sus cubiertas al abordar el corpúsculo, acaba, cerca del polo superior de la masa granulosa, á favor de ligero espesamiento (fig. 324, A).

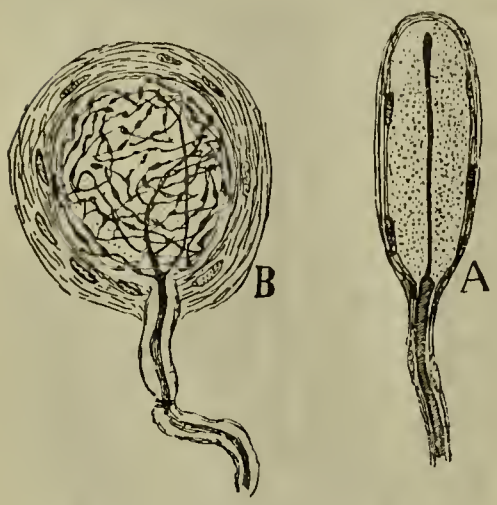

Fig. 324. — Corpúsculos de Krause. — A, corpúsculo de la conjuntiva del buey; B, corpúsculo de la conjuntiva del hombre (Dogiel).

La variedad compleja posee un tallo algo mayor y reside en la conjuntiva ocular y órganos genitales externos (fig. 324, B). El tubo nervioso aferente, en vez de terminar en la materia granulosa por simple ramo longitudinal, se ramifica en ésta repetidas veces, y los ramúsculos acaban por extremos engrosados y perfectamente libres (Retzius, Dogiel, etc.).

Dogiel describe también en la conjuntiva terminaciones nerviosas por ovillos ó apelotonamientos complicados de ramillas, sin aparato protector propiamente dicho.

Corpúsculos de Merkel.—En los bordes de la lengua y pico de las aves (singularmente del pato) existen unos corpúsculos especiales que se han considerado como un rudimento ó esbozo de los de Meissner. Estudiados en las preparaciones doradas, constan de células aplastadas y superpuestas, entre las cuales yace un disco biconvexo continuado con una fibra nerviosa. La cubierta de Henle de ésta prolóngase con el forro conectivo del corpúsculo (fig. 325, B, C). En el espesor de este disco terminal, Dogiel, trabajando con nuestro método del nitrato de plata reducido, ha observado complicada red neurofibrillar. Según Norwik (1910), las células de apoyo limitante de

los discos nerviosos encerrarían también una red fibrilar tupida, de la cual saldrían puentes comunicantes con el protoplasma del corpúsculo compañero.

Hay corpúsculos de Merkel que poseen tres y hasta cuatro corpúsculos horizontales. En este caso, la talla del órgano es mayor y el número de discos nerviosos terminales se acrecienta. En los mismos preparados puede verse también un pequeño corpúsculo semejante al de Pacini, del cual discrepa por exhibir células en la masa granulosa central (fig. 325, A). Este aparato terminal desígnase *órgano de Erbst*. Análogos son también los *corpúsculos de Golgi-Manzoni* residentes en el punto de unión de los tendones con los músculos.

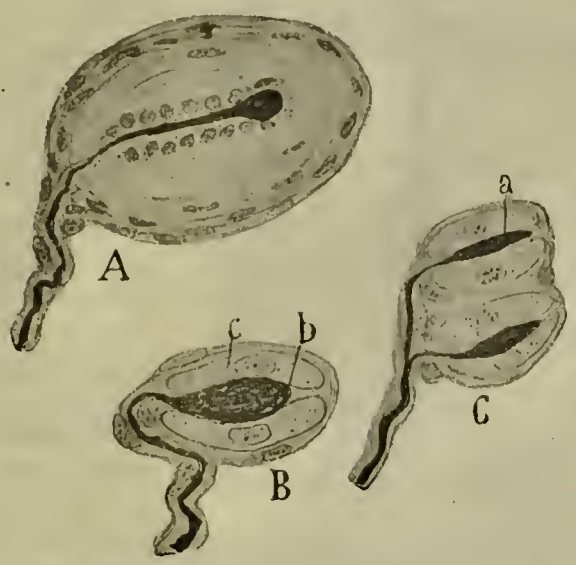

Fig. 325. — Terminaciones nerviosas en los bordes de la lengua y pico del pato. Nitrato de plata reducido. — A, órgano de Erbst; B, C, corpúsculos de Merkel.

Terminaciones nerviosas en los pelos.—Examinadas en los roedores por Arnstein, Bonnet y Ranvier, mejor estudiadas por v. Gehuchten y Retzius, estas arborizaciones residen alrededor del folículo piloso, no lejos del desagüe de las glándulas sebáceas. La fibra nerviosa llegada de lo profundo comienza por bifurcarse, trazando dos semianillos situados en la vaina conjuntiva del pelo, y de ellos brotan las ramas terminales, que están representadas por un gran número de colaterales gruesas, varicosas, ascendentes, paralelas y aplicadas sobre el pelo á modo de empalizada regular. Los cabos de estas ramas se aplican sobre la membrana vitrea (véase tejido piloso), sin traspasarla ni abordar, por tanto, la trama epitelial del bulbo piloso (fig. 326).

Esta descripción se refiere á los animales recién nacidos. En los roedores adultos la disposición de las fibras terminales se complica, según ha demostrado Tello con ayuda del nitrato de plata reducido (1905). En vez de una fibra, abordan el bulbo piloso ocho y más, las cuales, antes de resolverse en la empalizada terminal, trazan varias vueltas en torno de la raíz. En fin, la empalizada de ramas ascendentes se continúa á menudo y, de un modo individual, con una fibra nerviosa aferente.

En los pelos cavernosos ó táctiles de los roedores, las fibras nerviosas generan aparatos terminales todavía más complicados. Una parte de aquéllas acaban bajo la túnica vítrea del folículo piloso, mediante meniscos ó apéndices herediformes situados perpendicularmente á la raíz por debajo de ciertos corpúsculos epitélicos; otros conductores forman ciertos espesamientos ó porras terminales (terminaciones en espátula), situadas por encima de la membrana vítrea y paralelamente á la dirección del pelo. En la figura 327 mostramos detalles de los meniscos tactiles, bien descritos y dibujados por Tello. Nótese que cada abultamiento contiene una red compuesta de neurofibrillas primarias y secundarias. Los estudios de Tello acerca del aparato nervioso de los pelos comunes tactiles, y en cuyo detalle no podemos entrar aquí (véase *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo IV, 1905), han sido confirmados, consciente ó inconscientemente, por Lefevre (1908), Szymonovicz (1909), Botezat (1912), etc.

Fig. 326. — Terminaciones nerviosas en los pelos comunes. Ratón de pocos días (según Retzius).

Corpúsculos de Timotew. — Semejan á largos y sencillos corpúsculos de Pacini, pues poseen una masa granulosa central y fibra axial acabada en maza. Mas, á diferencia de éstos, ofrecen una segunda fibra nerviosa, más fina que la precedente, la cual se descompone en una riquísima arborización terminal extendida á distancia de la fibra axial, es decir, en torno de la masa granulosa. Moran semejantes corpúsculos en el dermis de la porción membranosa y pros-

tática de la uretra, así como en la cápsula prostática de los mamíferos (fig. 328).

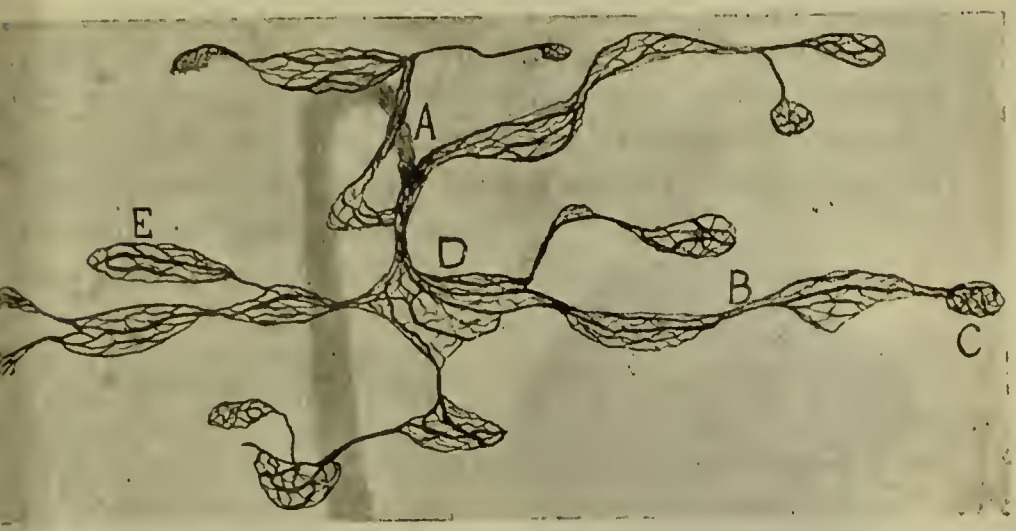

Fig. 327. — Meniscos tactiles en que se termina una sola fibra dentro de la vaína epitelial del pelo.—A, punto de división; B, puente de unión; C, botón terminal; D, menisco que sirve de base á varias ramas; E, menisco terminal. (Según Tello).

Terminaciones glandulares. — Este tema ha sido muy debatido hasta estos últimos años en que los métodos de Ehrlich y

Fig. 328. — Corpúsculos de Timotew de la cápsula prostática del perro. Método del azul de metileno. — A, fibra gruesa aferente; B, fibra fina ramificada en torno de la masa granulosa central. (Según Timotew).

de Golgi han permitido obtener coloraciones absolutamente correctas de las fibrillas terminales, aclarando definitivamente la

cuestión. Como hemos demostrado primeramente nosotros para las glándulas salivares, y han confirmado y ampliado Fusari y Panasci, Retzius, Müller, Cl. Sala, Dogiel, etc., las fibras nerviosas destinadas al tejido glandular acaban libremente sobre las células secretoras sin penetrar en el protoplasma (fig. 329, C).

Las fibras originarias provienen del gran simpático y están, por tanto, desprovistas de mielina; algunas representan quizás simples expansiones finas de ciertas células nerviosas multipolares (fig. 329, A), yacentes entre los acini de las glándulas (Cajal (1), Cl. Sala). Todas estas fibras constituyen primeramente un plexo tupido, situado por fuera del epitelio en pleno tejido conectivo, plexo cuyas trabéculas son en su mayor parte haces de fibrillas complejamente entrecruzados; de estos hacecillos se separan algunas hebras que marchan aisladas sobre la membrana glandular, donde se ramifican diferentes veces; y, finalmente, las últimas ramillas, que afectan gran delgadez y aspecto varicoso, acaban libremente en la cara externa de los corpúsculos grandulares.

Fig. 329. — Plexo nervioso terminal del páncreas. — A, célula simpática intersticial; B, acini glandular; C, plexo nervioso pericelular.

En algunas glándulas, en el páncreas, por ejemplo, nos ha parecido ver que dichas ramillas terminan libremente, no sólo por fuera de los corpúsculos secretores, sino entre los mismos, ó sea en el cemento intercelular. Ramas intracelulares, como las dibujadas por Tricomi-Allegra (1914) en el epitelio de la mama, no hemos visto jamás.

(1) *Cajal: Nuevas revelaciones del método de Golgi.* Barcelona, 1889.

CAPÍTULO XXIII

CONTINUACIÓN DE LAS TERMINACIONES NERVIOSAS, TERMINACIONES NERVIOSAS SENSORIALES MUCOSA OLFATIVA.—TERMINACIONES ACÚSTICAS

Terminaciones nerviosas olfativas. — La estructura de la región superior de la mucosa nasal, único paraje donde yacen los corpúsculos nerviosos olfativos, es bastante bien conocida desde las ya antiguas y memorables indagaciones de Máximo Schültze.

Dos principales especies celulares, arregladas en una sola capa, constituyen el epitelio nasal: los *corpúsculos epiteliales* ó de sostenimiento; las *células nerviosas* ó bipolares.

Las *células epiteliales* (fig. 331, A) son prismáticas, y ofrecen en sus caras numerosas fosetas ó moldes en hueco, para adaptarse á los corpúsculos bipolares, á los que aislan por completo. Parécense en esto tales células á las fibras de Müller de la retina y su misión no parece ser otra que impedir los contactos de los corpúsculos nerviosos, imposibilitando toda comunicación horizontal de corrientes.

Las *células bipolares* ó corpúsculos olfativos poseen un cuerpo diminuto, oblongo ó fusiforme, casi exclusivamente formado por el núcleo. De la delgada capa protoplásmica envolvente parten dos expansiones: *externa* é *interna* (fig. 311, B). La *externa* es gruesa, y acaba en la misma superficie libre del epitelio mediante algunos apéndices libres, finísimos, no vibrátiles y extendidos casi horizontalmente por la capa de mucina que moja exteriormente el epitelio. La *interna* es finísima, varicosa, con todas las apariencias de filamento nervioso (circunstancia que ya hizo notar Schültze), y prolongándose hasta la parte inférior del epitelio, se continúa con una fibrilla del nervio olfatorio (fig. 311, C).

Por el dermis de la mucosa corren numerosos haces de fibras olfatorias, separadas por una trama conectiva y abundantes glándulas tubulosas (glándulas de Bowmann).

La continuación de la expansión profunda de la célula bipolar con una fibra olfatoria, fué ya sospechada por Schültze. Pero la demostración absoluta del hecho ha exigido la invención de métodos analíticos especiales (método de Ehrlich y el de Golgi), y sólo ha sido llevada á cabo en estos últimos lustros, gracias á las investigaciones de Arnstein, Grassi y Castronovo, las nuestras y las de van Gehuchten.

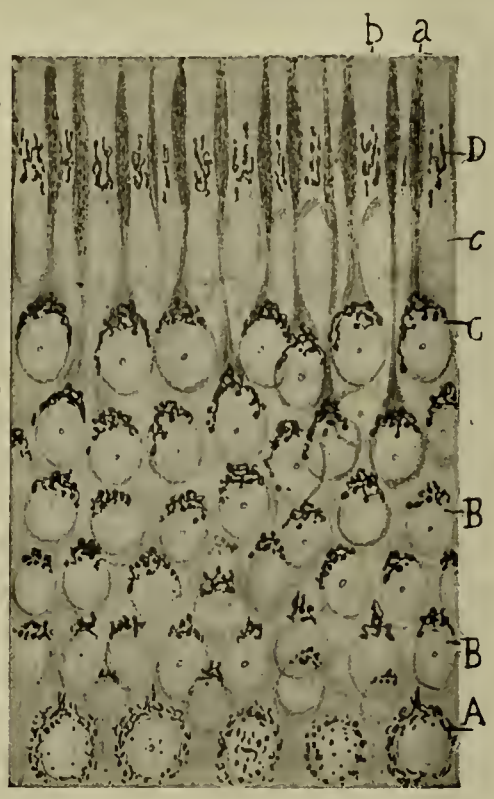

Fig. 330. — Corte de la mucosa olfativa del perro de veinte dias. Proceder de impregnación argéntica con fijación uránica previa. — A, células basales; B, corpúsculos bipolares profundos; C, primera hilera de células bipolares; D, aparato de Golgi de los corpúsculos epitélicos ó de sostén; *a*, cabo periférico de una neurona olfativa; *b*, cabo periférico de un corpúsculo de sostén (según Fañanás).

Nuestras observaciones sobre este punto prueban, no sólo la continuación de una fibra de los nervios olfatorios con una célula bipolar de la mucosa, sino también la perfecta unidad é independencia de aquélla durante todo su itinerario hasta el bulbo olfativo, donde cesa, á beneficio de una arborización libre. Las redes y ramificaciones que algunos autores habían descrito en el trayecto intra ó extra-epitelial de las fibrillas olfatorias, no han podido ser confirmadas con los nuevos métodos de coloración (1).

(1) *Cajal:* Origen y terminación de las fibras nerviosas olfatorias. *Gaceta Sanitaria Municipal.* Barcelona, 1890.

Los estudios recientes de Fañanás (1913) nos informan acerca de la forma y posición del aparato de Golgi en los elementos de la mucosa olfativa. Según mostramos en la figura 330, el aparato reticular de los elementos bipolares yace en el polo superficial de los mismos, rodeando estrechamente al núcleo (C); mientras que los corpúsculos de sostén albergan un retículo flojo, débilmente coloreable, de cordones más ó menos paralelos y situado por fuera del núcleo, en un plano más superficial que el de las células bipolares (D). En fin, en el nivel profundo del epitelio aparecen los elementos basales provistos de un aparato de Golgi granuloso y difundido por todo el cuerpo celular.

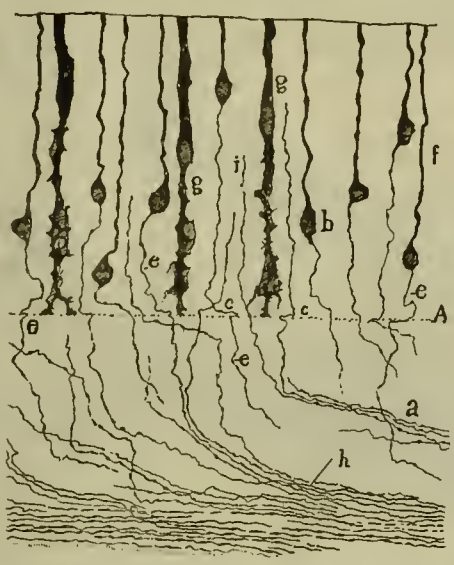

Fig. 331.—Células de la mucosa olfatoria del ratón de ocho días. — A, célula epitelial ó de sostenimiento; B, células bipolares; C, haces nerviosos olfatorios; D, terminación libre de una fibra quizá de naturaleza sensitiva (fibra de Brunn).

Las neurofibrillas de las células bipolares han sido descritas por Kolmer (1910) en los peces. En los vertebrados superiores es difícil impregnarlas con los métodos argénticos, mostrándose singularmente finas y pálidas. Este mismo autor señala también en los elementos epitélicos ciertas fibras interiores longitudinales, constitutivas de un aparato de sostén comparable al descrito por Held y otros sabios en los elementos de Deiters del órgano de Corti.

Terminaciones nerviosas en el oído interno.—La parte fundamental de caracol membranoso, es el órgano de Corti, punto donde se verifica la impresion de las ondas sonoras, y de cuya estructura, en extremo compleja, no señalaremos aquí más que los datos esenciales.

Sobre la membrana basilar yace una bóveda ó túnel prismá-

tico, de curso espiral, construído de dos hileras de pilares que, por su posición respecto del eje del caracol, se distinguen en internos y externos (fig. 332). Dichos pilares son células epiteliales diferenciadas en una materia dura, homogénea y elástica, excepto cerca de sus extremos inferiores, donde conservan todavía el núcleo y un resto del antiguo protoplasma. Insértanse por abajo sobre la membrana basilar (B), á cierta distancia unos de otros, y reúnense por arriba, ofreciendo el extremo superior de los internos una cavidad donde se aloja la cabeza de los ex-

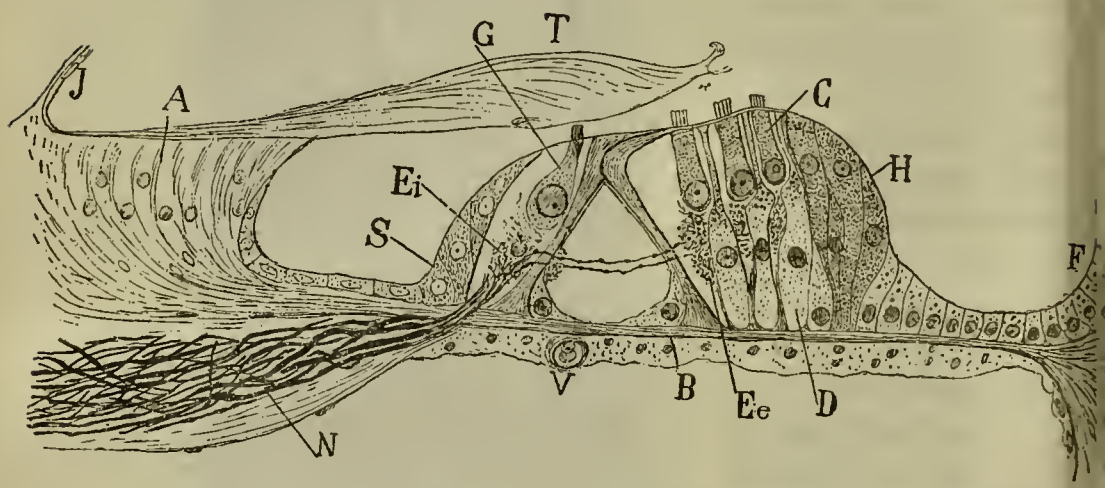

Fig. 332.—Corte del órgano de Corti del hombre (según Retzius).—A, cresta espiral; B, membrana basilar; C, células ciliadas externas; D, células de sostenimiento; *Ei*, manojo nervioso espiral interno; *Ee*, manojo nervioso espiral externo; F, epitelio del surco espiral interno; H, células de apoyo de Hensen; N, nervio coclear por encima del ganglio; T, membrana tectoria; V, vaso espiral; J, arranque de la membrana de Reissner.

ternos. Por fuera de estos últimos, se halla una formación epitelial, cuya altura va disminuyendo sucesivamente conforme se aleja del túnel de Corti. Esta capa epitelial se compone de dos clases de células: 1.ª Las de *Deiters* ó de sostén (D), muy alargadas, provistas de un extremo inferior grueso, implantado en la membrana basilar, y de otro delgado, dirigido oblicuamente hacia arriba y terminado en la superficie epitelial *(prolongación falángica)*. Hacia la porción intermedia, estos elementos poseen un espesamiento cóncavo en forma de copa, donde se apoyan los *corpúsculos acústicos*. Y 2.ª Las *ciliadas* ó corpúsculos *acústicos*, distribuídos en tres ó cuatro series al-

ternas con los elementos anteriores, y que se distinguen por ofrecer un cuerpo grueso, corto, terminado hacia arriba por un mechón de pestañas y hacia abajo por un cabo redondeado, sostenido por las células de Deiters (fig. 332, C). Por dentro del pilar interno existe otro revestimiento epitelial menos extenso, que consta de una hilera de *células ciliadas* análogas á las ante-

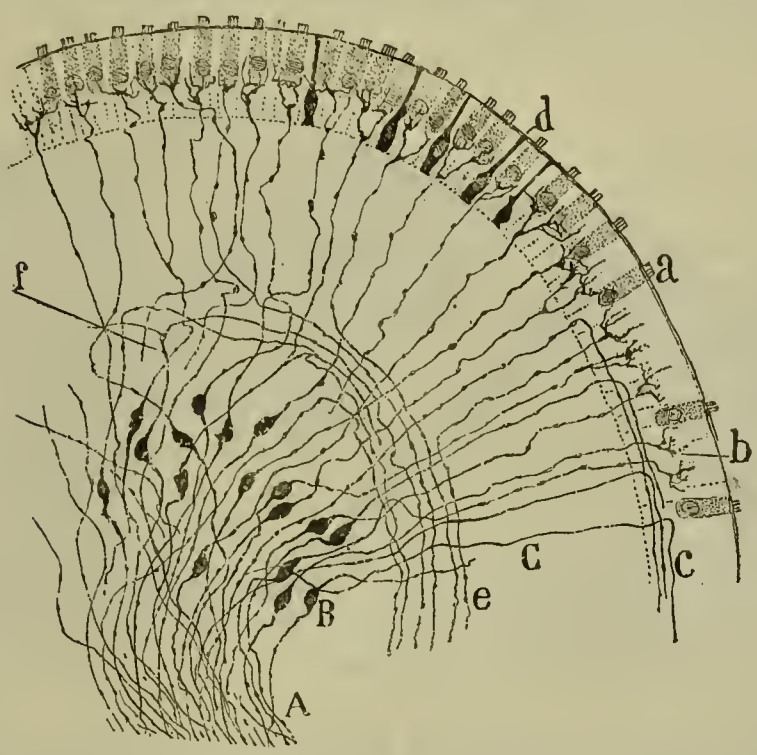

Fig. 333. — Corte de plano de una vuelta de espiral del órgano de Corti del ratón de cinco días. — A, nervio coclear; B, trozo de ganglio espiral; C, fibras que forman debajo del epitelio del órgano de Corti un haz espiral; *a*, células ciliadas; *b*, terminaciones nerviosas; *d*, células de sostenimiento.

riores (G), y varias filas de elementos no pestañosos (células de *sostén)*, cuya altura va decreciendo por dentro hasta igualar á la de los corpúsculos aplastados del surco espiral interno (S).

Durante el último decenio, la textura de las células de sostén del órgano de Corti ha sido estudiada esmeradamente por Botscher, Nuel, Landowsky, Retzius, Joseph, Spee, Held (1904), van der Strich (1908) Kolmer (1909), quienes, aplicando diversos métodos, han diferenciado en los corpúsculos no nerviosos del citado órgano cierto es-

queleto fibrilar que, por su elasticidad y resistencia, debe desempeñar algún papel importante en la función auditiva.

Las descripciones más precisas y completas se encuentran en las monografías de estos tres últimos sabios, quienes han usado de preferencia la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain, tras larga fijación de las piezas en un líquido bicromatado (mezcla de formol, bicromato de potasa y ácido acético, obrando varias semanas; después, decalcificación en ácido nítrico al 5 por 100, lavado, etc.).

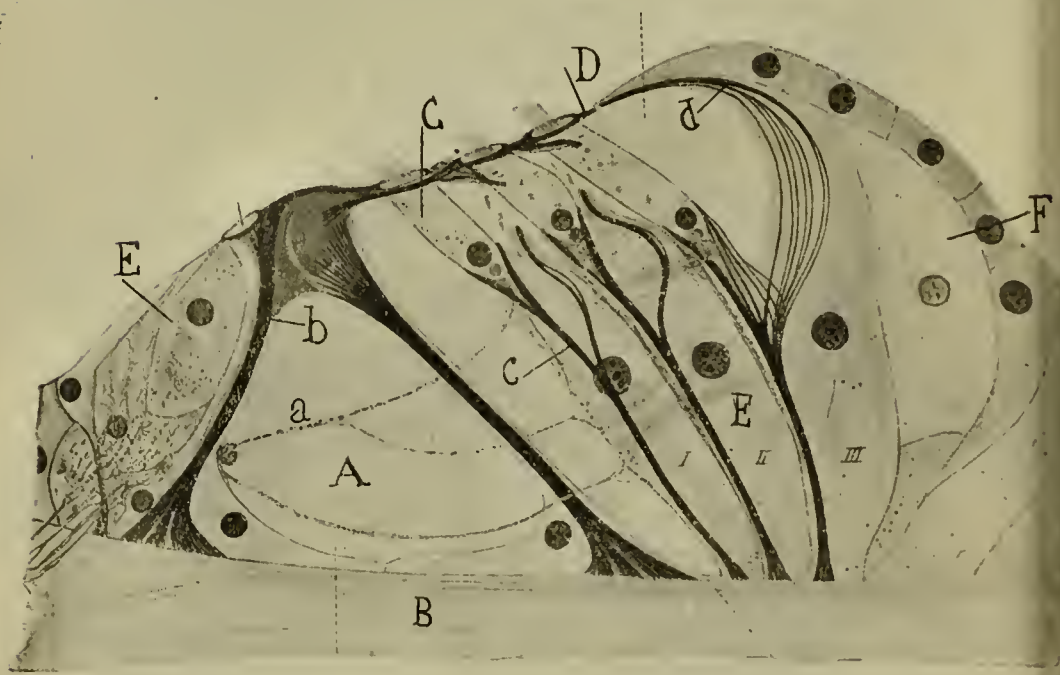

Fig. 334. — Armazón endocelular de las células de sostén del aparato de Corti, del cobaya, según Held.—A, túnel de Corti: B, membrana basilar; C, células ciliadas; D, membrana reticular; E, células de Deiters con sus esqueletos interiores; *a*, fibras nerviosas; *b*, esqueleto del pilar de Corti; *c*, esqueleto que sustenta la célula ciliada; *d*, prolongación falángica de una célula de Deiters con fibras para la capa reticular.

En la figura 334, tomada de una de las Memorias de Held, aparece claramente el esqueleto intracelular de sostén, acaso de naturaleza elástica, residente, tanto dentro de los pilares del órgano de Corti, como en los corpúsculos epiteliales ó de Deiters. En los pilares (figura 334, *b)* trátase de un haz de fibras que, comenzando cerca de la membrana basilar, corren paralelas hacia arriba; llegadas á la cabeza de aquéllos, unas terminan en el límite superior de la extremidad cefálica, mientras que otras abordan la membrana reticular, donde generan disposiciones complicadas, algo diferentes para cada pilar. Menos rico y compacto, el haz fibrilar de los elementos de Deiters

asciende también desde la membrana basilar, corre por un lado del protoplasma y, arribado al nivel inferior de las células ciliadas, se divide en dos manojos: el grueso ó principal acaba bruscamente debajo de los corpúsculos ciliados (fig. 334, *c)*, á los que sostienen como la huevera al huevo, y el fino ú accesorio que, después de penetrar en la expansión falángica de la célula de Deiters, desvíase lateralmente para abordar la membrana reticular, donde se termina por una placa apical *(d)*. En fin, la membrana reticular, punto de concurrencia de buena parte de las fibras de sostén, exhibe unos marcos ó anillos que encuadran y mantienen en posición los cabos superficiales de las células ciliadas (D).

Terminación en el caracol de las fibras del nervio coclear.— El problema de la terminación del nervio coclear ha sido resuelto hace varios años por Retzius, cuyos estudios han sido confirmados por van Gehuchten, von Lenhossék y nosotros. Como se ve en las figuras 333, B y 335, A, el nervio coclear proviene de las células bipolares del ganglio espiral del caracol. Las expansiones descendentes de estas células van hacia el bulbo para constituir la raíz coclear del acústico, y terminar en los núcleos acústicos ventral y lateral, yacentes al lado externo del cuerpo restiforme; mientras que las expansiones ascendentes ó periféricas penetran por entre las dos hojas de la lámina espiral ósea, llevando una dirección radiada, ganan después la membrana basilar é ingresan, finalmente, en el epitelio del órgano de Corti. Tanto la expansión descendente como la ascendente poseen vaina de mielina, que cesa en la ascendente cerca del paraje de ingreso en la membrana basilar. Como se advierte en la figura 333, *e*, donde hemos representado el órgano de Corti seccionado según el plano de la membrana basilar, no todas las expansiones ascendentes van desde luego al epitelio terminal; algunas, llegadas que son á la porción externa del ganglio espiral, se doblan para acabar sin duda en parajes mucho más altos del caracol; otras se bifurcan al mismo nivel, engendrando ramas generalmente desiguales, que acaso se terminen, después de un curso espiral variable, en zonas distantes del órgano de Corti.

En cuanto á las fibras que marchan directamente al órgano de Corti, las investigaciones de Retzius han demostrado que se comportan también de dos maneras: unas, las más, ganan el epi-

telio y se terminan por debajo de las *células ciliadas,* á favor de un penacho de hilos varicosos, ascendentes, que se ponen en íntimo contacto con el cabo inferior y caras laterales de dichos corpúsculos acústicos; y otras, menos numerosas, antes de arborizarse de igual modo, siguen un curso espiral variable por entre las células de Deiters (fig. 333, *c*). En el ratón de pocos días, en que el órgano de Corti se muestra todavía embrionario, estas

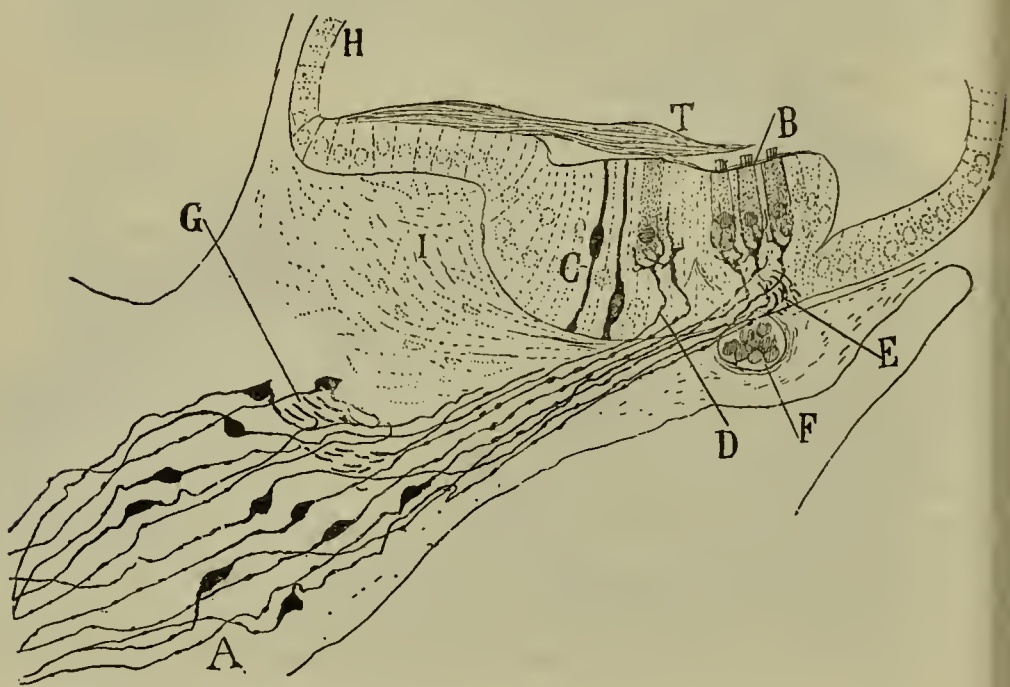

Fig. 335. — Corte del ganglio espiral y órgano de Corti del ratón de cinco días. — A, células bipolares del ganglio espiral; B, células ciliadas externas; C, células de sostenimiento; D, arborización terminal de una fibra nerviosa acústica; E, manojo nervioso espiral; F, vaso espiral; G, fibras que marchan en espiral á ramificarse á regiones distantes del órgano de Corti: H, membrana de Reissner; T, membrana tectoria.

últimas fibras espirales constituyen un sólo paquete, situado por debajo de las células ciliadas externas y encima de la membrana basilar; mas en el hombre, Retzius ha señalado la existencia de varios paquetes de fibras espirales: *el del túnel, el interno* colocado por debajo de las células internas (fig. 332, *Ei*) y *el externo,* subdividido en tres ó cuatro hacecillos secundarios y emplazados entre las células de Deiters, y debajo de las ciliadas externas (fig. 332, *Ec*).

Como quiera que existen dos zonas ó regiones provistas de cé-

lulas ciliadas, se contarán también dos clases de fibras terminales: *fibras internas* poco numerosas, que, sin pasar el túnel de Corti, se arborizan debajo de las células ciliadas internas (figura 335, D); y *fibras externas* muy abundantes, las cuales, en el adulto, cruzan reunidas en manojitos el túnel, para terminar de la manera sabida debajo de las células ciliadas externas (figura 335, E).

Los métodos neurofibrillares revelan bien la manera de terminar de las fibrillas nerviosas por debajo de las células ciliadas del órgano de Corti. El haz neurofibrillar de cada fibra parece entreabrirse y aplicarse al cabo inferior del corpúsculo ciliado, entrando en íntimo contacto con el protoplasma de éste. Tan estrecho es este contacto, que algunos autores, como London y Perker (1906), Kolmer (1907) y Bielschowsky y Brühl (1909), han creído en una penetración de las neurofibrillas nerviosas dentro del protoplasma del corpúsculo ciliado. En la figura 336 presentamos nosotros el detalle de esta terminación tomada del órgano de Corti de las aves (1908).

Fig. 336. — Detalles de la unión de las fibras acústicas y células ciliadas en el embrión de pollo del 19.° día de la incubación.

De lo expuesto resulta que el nervio coclear no es comparable al olfatorio. En la mucosa olfatoria la expansión protoplásmica ó periférica de las células bipolares se pone directamente en relación con el mundo exterior, mientras que en el órgano de Corti, esta misma expansión, nacida también de corpúsculos nerviosos bipolares, se relaciona con una categoría especial de elementos intermediarios, las *células ciliadas,* que son las encargadas de recoger y transformar las ondulaciones sonoras. Bajo este aspecto, el caracol membranoso se parece á la retina, donde se halla también una clase especial de células colectoras, los conos y bastones, destinados á llevar la impresión luminosa á los corpúsculos bipolares yacentes en capa más profunda.

Las prolongaciones internas de las células bipolares del gan-

glio espiral, que forman el nervio coclear, abordan el bulbo raquídeo, donde se bifurcan en rama ascendente y descendente; éstas, así como sus innumerables colaterales, se ramifican en *ganglio ventral y en el lateral del acústico*. En este punto la excitación acústica es tomada por unos gruesos corpúsculos esferoidales ó fusiformes, yacentes en dichos focos, y es llevada al tubérculo cuadrigémino posterior (Held, Kölliker, Cajal).

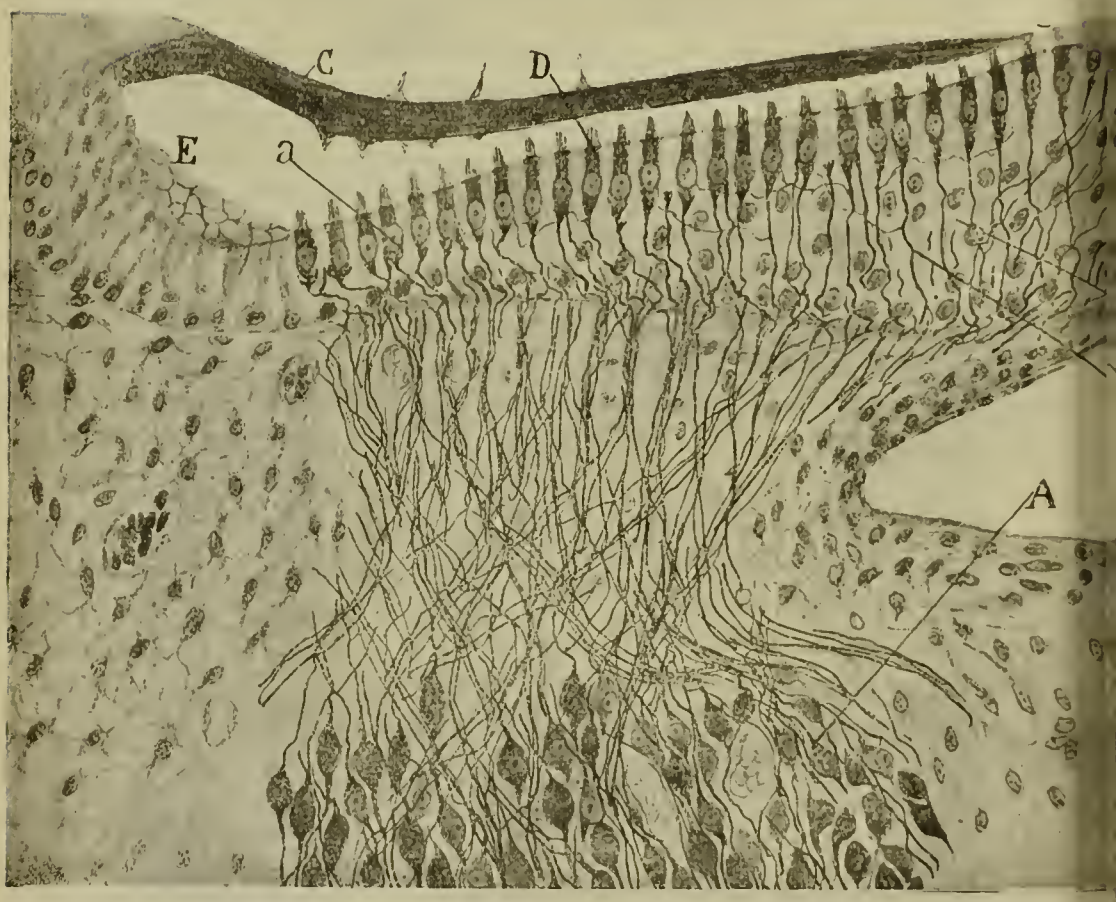

Fig. 337. — Corte transversal del epitelio acústico del embrión de pollo del 19.° día. — A, ganglio coclear; B, epitelio de sostén; C, membrana tectoria; D, células ciliadas; *b*, fibra acústica provista de colateral.

En las aves y reptiles existe un órgano de Corti y un caracol construídos esencialmente según los principios del de los mamíferos. Las rampas del caracol, sin embargo, no forman espira, sino un largo conducto, algo encorvado y terminado por un divertículo, donde acaban fibras nerviosas. Tampoco se presenta diferenciado el *túnel de*

Corti. En su lugar aparece una membrana espesa, la *papila basilar,* donde, como en los mamíferos, residen entre células de sostén las células ciliadas dispuestas en ancha empalizada. Como mostramos en la figura 337, D, cada célula ciliada recibe una fibra nerviosa; pero hay fibras que emiten colaterales accesorias en relación con células vecinas (fig. 337, *b*).

Terminaciones del nervio vestibular. — Procede este nervio de un ganglio especial situado en el fondo del conducto auditivo interno, el *ganglio de Scarpa ó vestibular.* Como las células del coclear, las de este ganglio poseen dos expansiones polares; nna *periférica,* que se dirige á las *máculas acústicas* del utrículo y sáculo, y crestas de los conductos semicirculares; otra *central,* que constituye la raíz vestibular del acústico y tiene su terminación en los ganglios de Deiters, Bechterew y núcleo descendente del bulbo.

En la figura 338 representamos el corte de una *mácula acústica* del ratón de pocos días. Esta mácula es una parte engrosada del epitelio del utrículo, y está construída, como todo epitelio sensorial, de dos clases de células: 1.°, *elementos de sotén,* es decir, células alargadas que ocupan todo el espesor epitelial y ofrecen: un cuerpo vuelto hacia abajo, portador del núcleo y yacente sobre el dermis mucoso, y un vástago ó expansión superior acabada, sin pestañas ni placa aparente, en la superficie libre (B); 2.°, *elementos ciliados,* más gruesos y granulosos que los anteriores, terminados superficialmente por una gruesa pestaña (A) y acabados por abajo á favor de un extremo redondeado y espeso, donde se alberga el núcleo. Estas células no suelen pasar inferiormente de la mitad de la altura de los corpúsculos de sostén.

Las fibras nerviosas, que representan, como hemos dicho, las prolongaciones periféricas de células bipolares, abordan el epitelio, se bifurcan á menudo en el límite inferior de éste, y terminan debajo de las células ciliadas á favor de una arborización horizontal de ramas gruesas y fuertemente varicosas (D). Algunos ramitos ascienden también, como ha mostrado Retzius, entre las células epiteliales, llegando hasta cerca de la superficie libre. Cada arborización horizontal se pone en relación de con-

tacto con los cabos inferiores de tres ó más células ciliadas. El conjunto de estas ramificaciones constituye, según han indicado Niemack y Lenhossék, un plexo nervioso horizontal extendido por debajo de los cabos de los elementos ciliados (fig. 338).

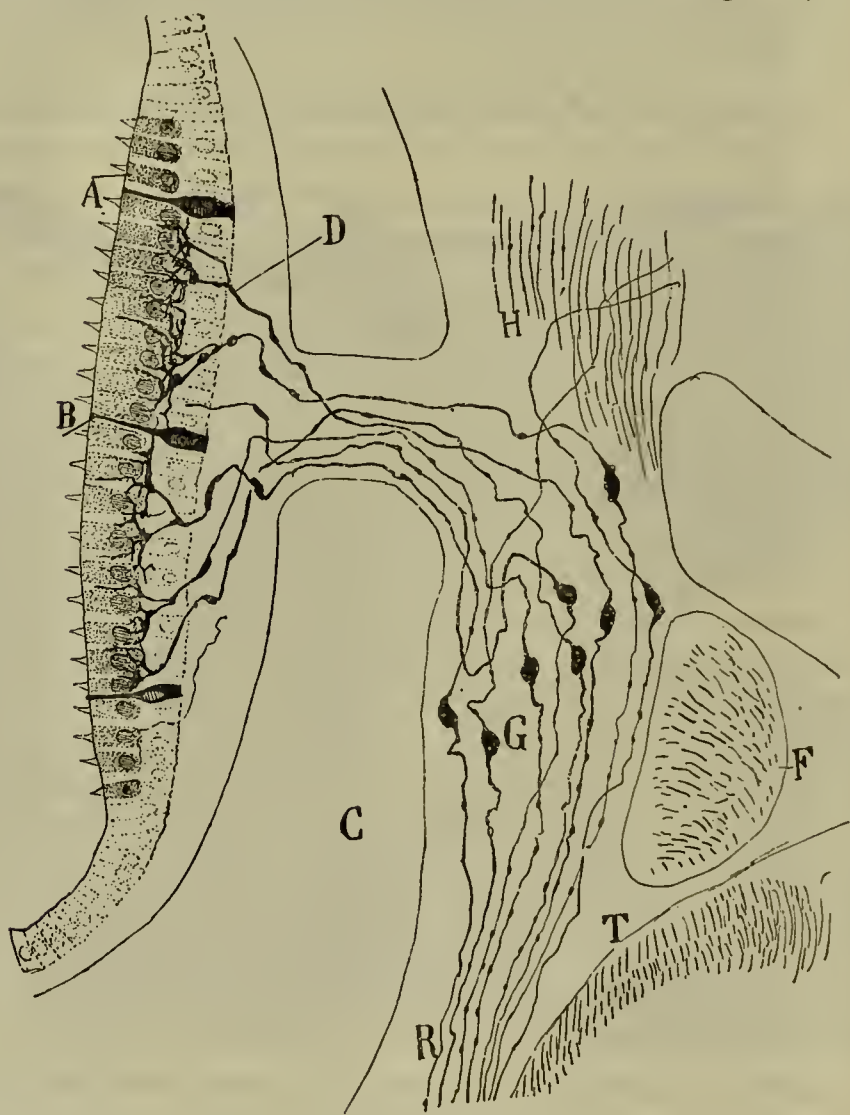

Fig. 338. — Ganglio vestibular y mancha acústica del utrículo del ratón de cuatro días. — A, células ciliadas; B, células de sostenimiento; D, fibra nerviosa terminal; G, ganglio vestibular; F, corte del nervio facial; T, bulbo raquídeo al nivel de la rama descendente del trigémino; G, cartílago.

Por lo demás, iguales terminaciones nerviosas y la misma estructura exhiben las crestas acústicas de los conductos semicirculares.

Los métodos neurofibrillares añaden algunos detalles á la descripción clásica de Lenhossék. Según resulta de las investigaciones de Kolmer (1907) y nuestras (1904), confirmadas en los mamíferos por Bielschowsky y Brühl (1907), además del plexo horizontal mencionado, cada fibra genera un nido ó pincel de finas ramillas que se aplica íntimamente á casi toda la superficie de la célula ciliada. Este nido ó copa parece formado

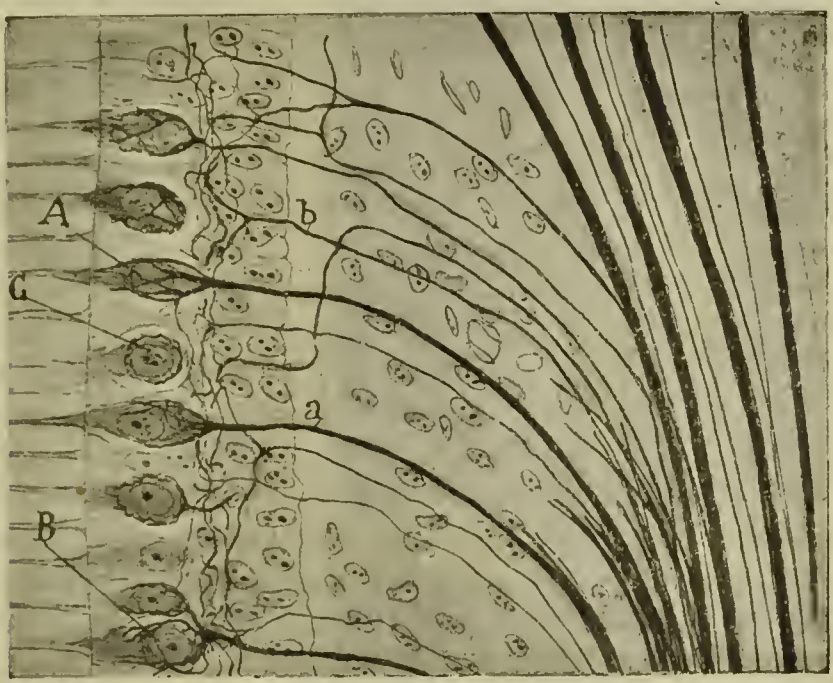

Fig. 339. — Corte de una mácula acústica del gorrión de pocos días. — A, nidos pericelulares formados por fibras de mediano grosor; B, fibras que generan dos nidos; *b*, fibra destinada al plexo horizontal intraepitelial.

por la dispersión de las neurofibrillas del axon aferente (figura 339, A). Hay fibras que producen un nido final, pero existen otras más abundantes en las *crestas* acústicas que en las *manchas* (fig. 339, B), que constituyen un racimo de nidos próximos destinados á un grupo de corpúsculos ciliados. En fin, notemos que las fibras generadoras de los nidos son gruesas *(a)*, mientras que las destinadas al plexo horizontal son delgadas *(b)*, aunque en este plexo penetran también algunas ramas colaterales emanadas de los recios conductores. Añadamos aún que, según Biels-

chowsky, cada célula ciliada posee en su protoplasma un anillo neurofibrillar, particularidad que denota la naturaleza nerviosa de tales elementos.

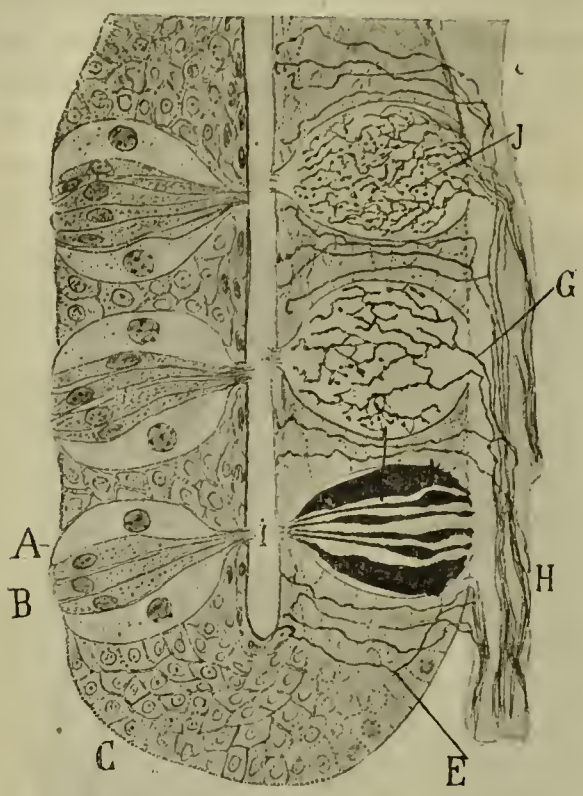

Fig. 340.—Corte vertical de un repliegue epitelial del órgano foliado del conejo. A la izquierda se ven los botones gustativos teñidos por el carmín; á la derecha se muestran teñidos por el método de Golgi.—A, célula de sostenimiento; B, células bipolares; C, epitelio pavimentoso; E, fibras nerviosas intergemmales; G, arborizaciones nerviosas intragemmales; J, un botón gustativo donde el plexo nervioso aparecía teñido por completo; H, haces nerviosos que corren por el dermis; I, poro gustativo (según Retzius y Lenhossék).

Las prolongaciones centrales de las células bipolares del ganglio de Scarpa, engendran el *nervio vestibular* y marchan al bulbo raquídeo á un foco especial llamado *ganglio de Deiters,* en el cual, según han mostrado las investigaciones de Kölliker, de Held y de Cajal, se bifurcan, produciendo una rama ascendente y otra descendente, ricamente arborizadas en dicho foco.

Como nuestras indagaciones han revelado, la rama ascendente se distribuye especialmente por el ganglio de Bechterew (prolongación posterior del de Deiters), penetrando después en el cerebelo, donde tiene su especial terminación.

Terminaciones nerviosas en los órganos del gusto. — El aparato terminal del gloso-faríngeo lo constituyen ciertos órganos en forma de tonel, llamados *yemas* ó *botones gustativos,* situados en el epitelio del surco que rodea á las papilas caliciformes y fungiformes de la lengua. En el conejo, el aparato terminal gus-

tativo está representado por dos placas redondeadas, colocadas á los lados de la lengua y cubiertas de crestas paralelas *(órgano foliado)*.

Cuando se examina al microscopio un corte fino del *órgano foliado* del conejo, se ve que en cada surco interpapilar el epitelio posee varias hileras de yemas gustativas (fig. 340, A). Estas yemas afectan figura oblongada, se extienden desde el tejido conectivo á la superficie libre, y constan de dos clases de células: *las de sostén*, gruesas, pálidas, á veces vacuoladas, ricas en protoplasma y yacentes en la periferia del acúmulo celular (A); y las *bipolares* (B) situadas en el centro, mucho más delgadas y provistas de un cuerpo ligeramente engrosado por el núcleo, de un extremo superior adelgazado y prolongado hasta la superficie libre, de la cual emerge bajo el aspecto de fina pestaña y de un cabo inferior más espeso, terminando libremente cerca del dermis. Retzius (1913) y Heidenhain (1913) que han estudiado atentamente la estructura de estas dos clases de células, señalan entre ellas transiciones de morfología y de textura. Pudiera, pues, ocurrir que sean tan sensoriales ó receptoras las unas como las otras. Las células epiteliales comunes llenan los espacios que median entre los botones gustativos, y en el vértice de éstos reservan un espacio circular, el *poro gustativo* (figura 340, *i*), por donde las partículas sápidas pueden directamente impregnar las pestañas de las células bipolares.

Los filamentos nerviosos han sido estudiados por varios autores, particularmente por Arnstein, Lenhossék, Retzius, Fusari y Panaszi, Jacques, etc., los cuales se han servido ya del método de Ehrlich, ya del de Golgi. Los resultados conseguidos por estos observadores concuerdan en lo substancial y han conducido á admitir en el aparato gustativo dos clases de fibras terminales:

1.ª *Fibras intragemmales* (G), es decir, fibrillas finas, numerosas, que, después de circular reunidas en hacecillos por debajo del epitelio, abordan el cabo inferior del botón ó yema gustativa y engendran una arborización varicosa, libre y muy complicada, que abraza con sus giros y revueltas la superficie de las células bipolares. Cuando las fibras impregnadas son muy nu-

merosas, como aparece en la figura 340, J, el plexo terminal es tupidísimo, y no yace solamente por fuera de las bipolares, sino también entre ellas.

Fig. 341. — Corte de la retina humana. Coloración por las anilinas. — A, capa de conos y bastones; B, capa de los granos internos ó células bipolares; E, capa plexiforme interna; F, capa de las células ganglionicas; G, capa de las fibras del nervio óptico; *a*, limitante externa; *b*, limitante interna.

2.ª *Fibras intergemmales* (E). — En los espacios epiteliales que separan los botones gustativos, se ven además unas fibras rectas ó casi rectas, poco ramificadas, las cuales se extienden desde los manojitos nerviosos subepiteliales, hasta la misma superficie libre, donde acaban por un extremo varicoso, á menudo doblado ó dispuesto en zig-zag.

Ignórase cuál es la significación de estas últimas fibras. Tocante á las primeras ó intragemmales (J, G), los autores están de acuerdo en considerarlas como terminaciones sensoriales específicas, encargadas de noticiar al sensorio de las cualidades sápidas de los alimentos y bebidas.

De lo expuesto resulta que, en el aparato gustativo terminal, la impresión no es recibida directamente por los nervios, sino por unos corpúsculos

intermediarios, las *células bipolares* en un todo análogas, bajo el aspecto funcional, á los bastones y conos de la retina y á las células ciliadas de los aparatos acústico y vestibular.

Terminaciones sensoriales.—*a)* RETINA. —Esta membrana, expansión del nervio óptico, es el resultado de la aproximación y adherencia de las dos paredes, anterior y posterior, de la vesícula ocular embrionaria. La pared anterior, notablemente engrosada, engendra las capas retinianas comprendidas desde la de los bastoncitos hasta la limitante interna; mientras que la pared posterior origina solamente la capa epitelial ó pigmentaria. En el curso del desarrollo, las capas retinianas anteriores (desde la granulosa interna hacia adelante) de los mamíferos, son invadidas por los capilares sanguíneos, mas no por los elementos conjuntivos mesodérmicos.

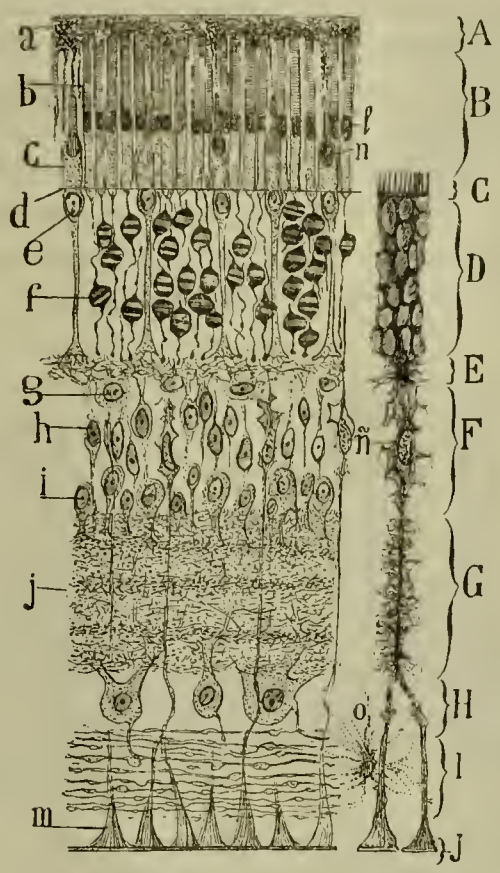

Fig. 342. — Corte perpendicular de la retina del perro.—A, capa pigmentaria; B, de los bastones y conos; C, limitante externa; D, de los granos externos; E, plexiforme externa; F, de los granos internos; G, plexiforme interna; H, de las células ganglionares; I, de las fibras del nervio óptico; J, capa limitante interna; *a*, células pigmentarias; *b*, segmento externo de un bastón; *c*, cono; *d*, limitante externa; *e*, núcleo del cuerpo del cono; *f*, núcleo del cuerpo del bastón; *g*, célula horizontal; *h*, célula bipolar; *i*, espongioblasto ó célula amacrina; *j*, zonas granulosas ó pisos de la plexiforme interna; *m*, cono terminal de una fibra de Müller; *o*, célula de neuroglia; *ñ*, núcleo de las fibras de Müller. A la derecha de la figura se ve una fibra de Müller ó célula epitelial.

Estudiaremos en la retina, de acuerdo con los autores más

modernos, diez capas ó zonas distintas, que, contando de dentro á afuera, son: 1.°, *limitante interna;* 2.°, la de las *fibras del nervio óptico;* 3.°, la *capa de célnlas ganglionares;* 4.°, *capa plexiforme interna;* 5.°, *capa de las célnlas bipolares* ó de los *granos internos;* 6.°, *capa plexiforme externa;* 7.°, *capa de los cnerpos de las célnlas visnales* ó zona de los granos externos; 8.°, *capa limitante externa;* 9.°, *capa de los conos y palitos* ó bastoncitos; 10, *capa pigmentaria.*

Elementos nenróglicos ó de sostén. — Los pricipales son las células epiteliales ó fibras de Müller, elementos gigantes alar-

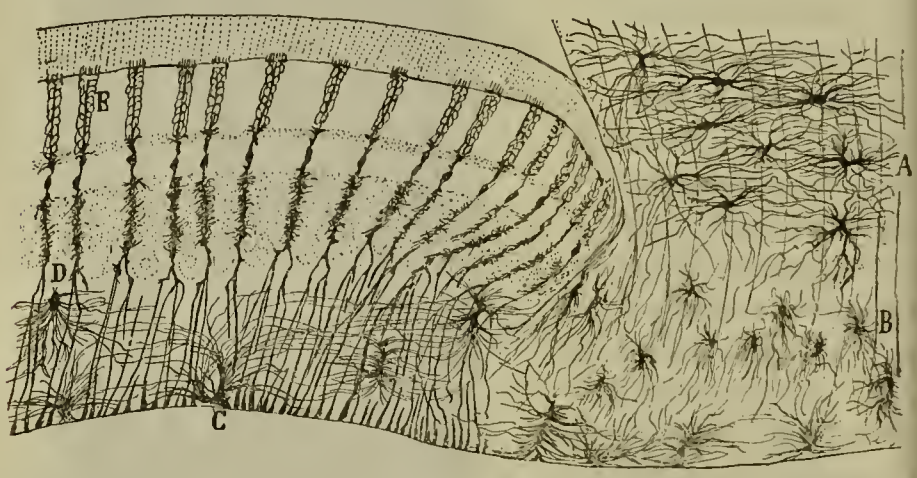

Fig. 343. — Células epiteliales y neuróglicas de la retina y nervio óptico. — A, células del nervio óptico; B, neuroglia de la papila; C, neuroglia de la capa de fibras ópticas; D y E, fibras de Müller.

gados que, arrancando de la zona limitante interna y cruzando perpendicularmente las capas nerviosas, se terminan al nivel de la limitante externa. Las limitantes mismas no representan otra cosa que la reunión en lámina delgada de las chapas ó membranas en que rematan por sus extremos las citadas fibras de Müller. En su curso á través de la retina, las células epiteliales ofrecen diversos aspectos; comienzan á favor de un cono de base interna al nivel de la limitante (fig. 342, J), marchan trazando alguna curva por las zonas ganglionar y de fibras ópticas, y en las capas centrales de la retina emiten dos clases de expansiones: apéndices finos, granulosos, rizados, para las dos capas plexiformes; expansiones laminosas moldeadas en fosetas y dis-

puestas en una trama como esponjosa para las zonas de los granos (fig. 343).

El cuerpo de la célula de Müller posee un núcleo prolongado residente al nivel de la zona de los granos internos (fig. 342, *ñ*).

Por último, de la chapa terminal externa ó limitante externa parten hacia afuera finos hilos que sirven para separar los conos y bastones (figura 342, C). Las expansiones partidas de una célula de Müller tocan las emanadas de las vecinas, pero sin anastomosarse jamás. Los huecos resultantes alojan los elementos nerviosos de la retina, los cuales quedan perfectamente aislados dinámica y anatómicamente.

A más de las células epiteliales, la capa de fibras del nervio óptico contiene células de neuroglia en forma de araña y enteramente iguales á las de la substancia blanca de los centros (fig. 343, C).

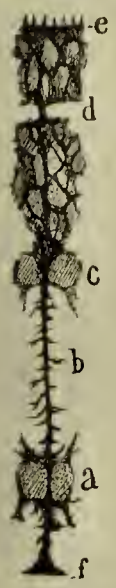

Fig. 344. — Célula epitelial de la retina de la rana. — C, limitante externa; *d*, porción correspondiente á la capa plexiforme externa; *c*, mortaja para los espongioblastos; *b*, apéndices para la capa plexiforme interna; *a*, huecos para las células gangliónicas; *f*, capa limitante interna.

Capa pigmentaria.—Está constituída por un estrato de células alargadas que contienen cristales de pigmento en su interior. La extremidad externa de estas células es maciza, encierra el núcleo y forma un pavimento exagonal bastante regular; mientras que la interna aparece descompuesta en numerosos hilos granulosos, á veces portadores de granos melánicos, los que, insinuándose entre los conos y bastones, forman á los extremos de éstos una atmósfera pigmentaria absorbente de la luz (fig. 342, *a*).

Capa de los bastones y conos, llamada también *membrana de Jacob.* — Por fuera de la limitante externa y entre las expansiones profundas de las células pigmentarias, se ve una hilera de elementos alargados, rectilíneos y dispuestos como las estacas de una empalizada. Estos corpúsculos se distinguen por su forma en dos variedades: los *bastones* y los *conos.*

Los *bastones* son filamentos cilíndricos, de contorno rectilíneo y de una longitud de 60 μ por 2 ó 2 y media μ de anchura; están mezclados á los conos é implantados perpendicularmente sobre la limitante interna; constan de dos segmentos que se distinguen por sus diversas propiedades, aunque son continuos substancialmente: el *externo* y el *interno*. El *externo* es hialino (fig. 345, *f*), birefringente, colorable en negro por el ácido ósmico, incolorable por el carmín, y ofrece ciertos canales delgados, longitudinales, que le prestan aspecto estriado á lo largo. El agua salada le descompone en discos transversales sumamente delgados, especie de chapas epiteliales reunidas por un cemento sumamente alterable; y á su alrededor existe una membrana homogénea formada, según Kühne, de *neurokeratina*. El *segmento interno* es más grueso (A), algo más abultado en su región central, de aspecto granuloso, colorable por el carmín é incolorable por el ácido ósmico. Cerca de su continuación con el externo encierra un glóbulo alargado, de forma

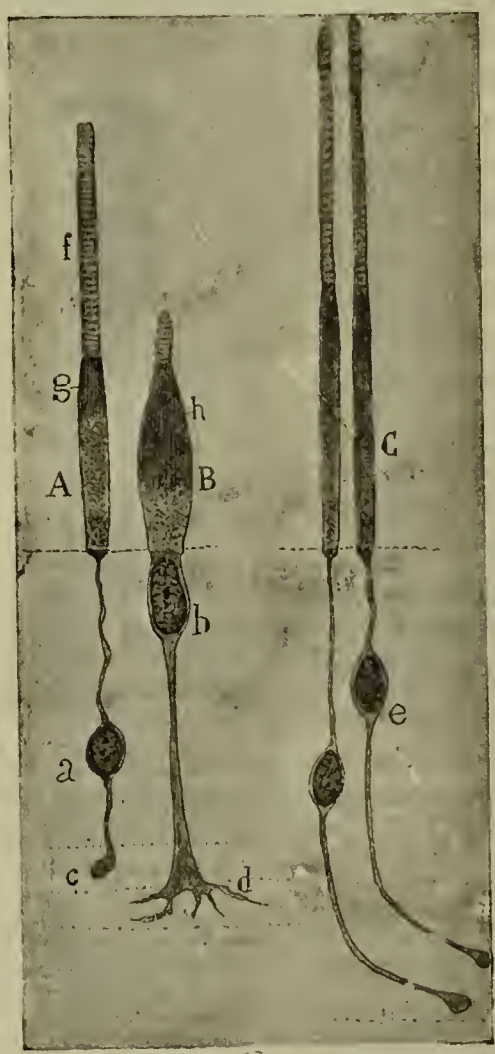

Fig. 345. — Detalles de los conos y bastones de la retina humana (preparación por disociación). — A, B, cono y bastón respectivamente de la región periférica ó principal de la retina; C, conos finos y largos de la foseta central.

semielipsoidea (corpúsculo semi-elipsoideo), constituído por una materia poco afine del carmín y hematoxilina y estriada finamente en sentido longitudinal (fig. 345, *g*).

La retina fresca es de un color rojo uniforme, excepto en la *fovea centralis*. Esta coloración se debe á la presencia de una materia colorante sensible á la luz actínica, exclusivamente depositada en los artículos externos de los bastones *(púrpura visual, rodopsina, foto-estesina,* etc.).

Los *conos*, más cortos que los bastones y mucho menos numerosos que éstos, excepto en la foseta central donde se encuentran de un modo exclusivo, son elementos gruesos y de una forma que puede compararse con la de una botella. También poseen los conos dos segmentos de propiedades análogas á las de los bastones (fig. 345, B); sólo que el interno, que corresponde á la parte más gruesa, encierra un corpúsculo elipsoideo mucho más robusto (fig. 345, *h*).

En la serie animal ofrecen importantes variaciones de dimensión y forma los conos y los bastones. Así, en los batracios y peces, los bastones son recios y de tamaño colosal, en tanto que los conos son finos y cortos y semejantes á los de los mamíferos (fig. 354, *c)*. Añadamos que en la rana, además de los bastones coloreados en rojo por la rodopsina, los hay también teñidos de verde (bastones verdes).

En los reptiles parecen faltar los bastones, y en las aves son muy poco numerosos, dominando enormemente los conos, cuya forma aparece en la figuras 345, A y 353. Repárese un detalle interesante: en la unión del artículo interno con el externo, reside una esfera refringente formada por una substancia grasienta que lleva en disolución una materia colorante de tonos diferentes. En unos casos la esfera es roja, en otros amarilla, en otros anaranjada y en los menos azul y verdosa.

Según se ve en la figura 346, *a*, los susodichos granos yacen á nivel un poco diferente, disponiéndose en la misma línea los correspondientes á un mismo matiz (Scort).

Según Held (1904) el cono y el bastón albergarían en su artículo interno un diplosoma ó doble centriolo, del que partiría un hilo superficial, que se dirige hacia afuera, costeando el artículo externo hasta desvanecerse por delgado. Este diplosoma fué ya visto por Fürst (1904) en la retina embrionaria.

Capa limitante externa (fig. 342, *d*). — Es una cutícula recta, finísima, formada por la reunión de las chapas que guarnecen exteriormente á las fibras de Müller. Esta chapa está acribillada de agujeros para el paso de las prolongaciones profundas de los conos y bastones.

Capa de los cuerpos de los elementos visuales. — Los cuerpos de las células visuales, llamadas también *granos externos*, representan la prolongación protoplásmica profunda de los conos y bastones. Es preciso distinguir el cuerpo del cono del cuerpo del bastón.

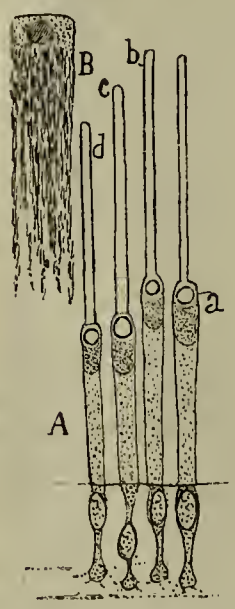

Fig. 346. — Conos de la paloma. — A, artículos internos de los conos; B, célula pigmentaria; *a*, esferas coloreadas.

El del cono yace cerca de la limitante, poseyendo un núcleo grueso y ovoideo; por abajo el protoplasma se continúa en fibra recta, la cual, al llegar á la zona plexiforme externa, experimenta una dilatación cónica *(pie del cono)*, de cuyo contorno basilar emergen algunas fibrillas horizontales libremente terminadas (figuras 345, *d* y 347, B).

El *cuerpo del bastón* (fig. 345, A, *a*) reside á distintas alturas de la zona que estudiamos y encierra un núcleo ovoideo de menor tamaño que el del cono, y cuya cromatina homogénea está dispuesta en zonas transversales alternadas con fajas acromáticas. Siendo los cuerpos de los bastones más numerosos que los de los conos, se ven obligados á constituir muchas hileras, las cuales son tanto más abundantes cuanto más finos se muestran los bastoncitos. El protoplasma se estira en dos fibras, ascendente y descendente: la expansión ascendente, fina y varicosa, se continúa con un bastoncito, mientras que la descendente, también delicada, baja hasta la zona plexiforme externa, donde acaba mediante una esferita completamente libre y exenta de ramillas (fig. 345, *c*).

Capa plexiforme externa.—Es el punto de entrecruzamiento de numerosas expansiones protoplásmicas, emanadas de las cé-

lulas de la capa subyacente (granos internos), así como de muchas fibrillas basilares procedentes de los pies de los conos.

Esta zona debe dividirse en dos pisos, *superior* é *inferior*. Cada uno de ellos es paraje de empalme de una categoría particular de células nerviosas.

El *piso superior* es el punto de reunión y contacto (fig. 348, *c*) de las esférulas terminales de los bastoncitos y de los penachos ascendentes de ciertas bipolares (bipolares para bastón). El *piso inferior* (fig. 348, *z*, C) es el punto de concurrencia y contacto de los pies y fibrillas basilares de los conos por un lado, y de las expansiones superiores aplanadas de ciertas bipolares, por otro (bipolares para cono).

Capa de las células bipolares ó de los granos internos.— Es esta zona la más complicada de la retina, debiendo subdividirse, para el mejor orden descriptivo, en tres subzonas: 1.°, subzona de las *células horizontales* (sub-reticulares, estrelladas, etcétera, de ciettos autores); 2.°, de las *células bipolares*, y 3.°, de los *espongioblastos*.

a) *Células horizontales.*—Estudiadas por Krause y Schiefferdecker en casi toda la serie de los vertebrados, sólo han sido conocidas regularmente después de los trabajos de Tartuferi, Dogiel y los nuestros. En los mamíferos, estas células forman dos variedades, amén de alguna subvariedad menos importante: células horizontales pequeñas ó externas, y células horizontales grandes ó internas (fig. 347, *b*, *c*).

Las *células horizontales pequeñas* son aplanadas, estrelladas y yacen inmediatamente debajo de la zona plexiforme externa. De su periferia brotan numerosas expansiones divergentes y ramificadas que constituyen, debajo de los pies de los conos, un plexo muy tupido. El cilindro-eje es fino, dirígese horizontalmente por la zona referida, y á distancia variable acaba descomponiéndose en algunas ramitas terminales; en su trayecto emite numerosas colaterales ramificadas y libres (fig. 347, *a*).

Las *células horizontales grandes* (fig. 347, *b*, *c*), yacen por lo general en un plano más interno que las precedentes, de las que se distinguen además por su gran robustez. Sus expansiones protoplásmicas son espesas, horizontales y rematan á no mucha dis-

tancia á favor de ramitas cortas, digitiformes y ascendentes. La expansión nerviosa es robusta y horizontal, y fué ya vista por Tartuferi. Dogiel, que la ha impregnado recientemente con el azul de metileno, supone que, tras un curso horizontal variable, desciende bruscamente á través de las capas retinianas, para continuarse con una fibra del nervio óptico; pero en nuestro sentir, el sabio ruso ha sido víctima de una ilusión, explicable por lo difícil que es apreciar, en retinas vistas de plano y colorea-

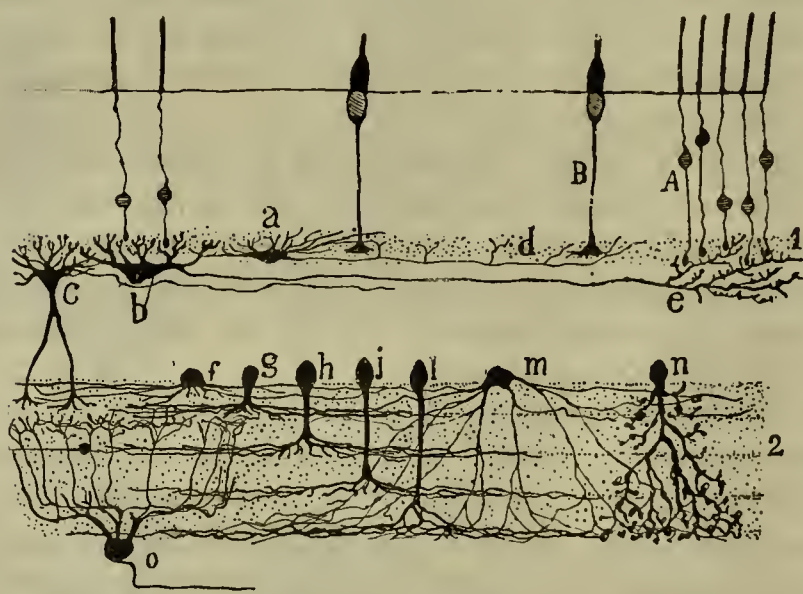

Fig. 347. — Corte perpendicular de una retina de mamífero. — A, cuerpo de los bastones; B, cuerpo de los conos; *a*, célula horizontal pequeña; *b*, célula horizontal grande; *c*, célula horizontal con expansión protoplásmica descendente; *e*, arborización terminal de un cilindro-eje de célula horizontal; *f*, *g*, *h*, *j*, *l*, *m*, *n*, variedades de espongioblastos; *o*, célula ganglionar bi-estratificada.

das por dicho reactivo, el curso total de las fibras nerviosas y el plano real donde yace cada célula. De nuestras nuevas observaciones, resulta que los tales cilindros-ejes no bajan nunca de la zona plexiforme externa, sino que después de un trayecto larguísimo, se terminan en ella á favor de una arborización varicosa de enorme extensión. Cada fibra de semejante ramificación envía hacia el piso de las esférulas de los bastoncitos una ramita corta acabada por una varicosidad (fig. 347, *e*).

Como variedad de células horizontales grandes ó internas,

debe mencionarse una especie caracterizada, aparte las propiedades supradichas, por exhibir una ó dos expansiones protoplasmáticas descendentes que se ramifican en la zona plexiforme interna (fig. 347, *c*). Tartuferi y Dogiel creen que todas las células horizontales grandes poseen expansiones descendentes; pero nuestras investigaciones ponen fuera de duda la existencia de células de esta especie exentas de tales apéndices.

b) *Células bipolares.* — Como han demostrado Tartuferi y Dogiel, estas células son fusiformes y poseen dos expansiones: ascendente y descendente. La descendente es siempre única y cesa, á distintas alturas de la zona plexiforme interna, por un penacho aplanado; la ascendente es á menudo múltiple, y forma una abundante ramificación que se dispone horizontalmente en el piso inferior de la zona plexiforme externa (fig. 348, C, *z*). Nuestras indagaciones nos permiten añadir á la descripción de dichos autores los siguientes datos:

1.° Tanto el penacho formado por la expansión ascendente como el constituído por la descendente, acaban por ramitas varicosas y libres. No existen, por tanto, las redes que dichos sabios, influídos por el ambiente científico en que escribieron, han descrito en los planos de arborización de tales expansiones.

2.° Las células bipolares no son todas iguales, existiendo entre ellas notables diferencias de forma y de magnitud. Las principales variedades son: 1.ª Células bipolares de penacho ascendente fino, terminando libremente entre las esferitas de los bastones (fig. 348, *c)*. Como éstas se alojan precisamente entre las fibrillas de dicho penacho y como hasta ellas no llegan las expansiones de otros elementos, no queda más recurso que considerar tales bipolares como los corpúsculos destinados á recoger la actividad específica acarreada por los bastoncitos. De aquí el nombre de *bipolares para bastones* que nosotros las hemos dado.

2.ª Células bipolares de penacho aplanado, ramificado en el piso segundo de la zona plexiforme externa, paraje donde se dilatan las fibrillas basilares de los conos (fig. 348, *z)*. Esta coincidencia de posición nos ha hecho calificar dichas células de *bipolares para los conos,* porque, dada la disposición de su pe-

nacho externo, sólo con éstos pueden conexionarse (fig. 348, *f*).

3.ª El penacho inferior de todas, ó al menos de la mayor parte de las bipolares para bastones, se aplica al cuerpo de las células de la capa ganglionar, mientras que el penacho descendente de las bipolares para conos se termina sobre uno cualquiera de los pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna (figura 348, F.).

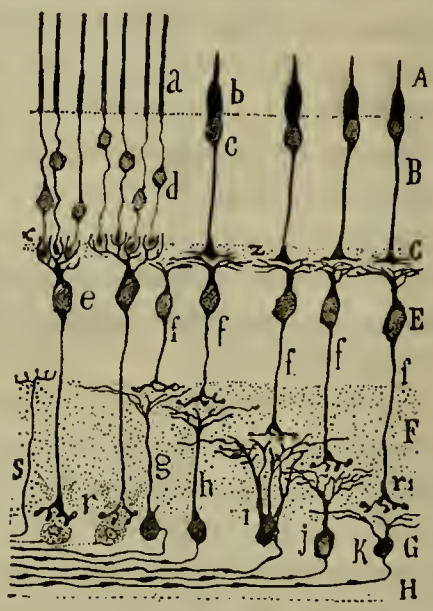

Fig. 348. — Células de la retina de un mamífero. — A, capa de los conos y bastones; *d*, cuerpo de los bastoncitos; *e*, *f*, especies de bipolares ó granos internos; C, capa plexiforme externa; E, capa plexiforme interna; G, capa de las células ganglionares; *a*, bastones; *b*, cono; *e*, bipolares para bastones; *f*, bipolares para cono; *s*, fibras centrífugas; *g*, *h*, células gangliónicas destinadas respectivamente al primero y segundo piso de la capa plexiforme interna; *i*, *j*, K, ganglionares ramificadas en los pisos inferiores; H, capa de la fibras del nervio óptico; *r*, pies terminales de las bipolares de bastón.

c) *Espongioblastos ó células amacrinas* (1) (figs. 341, *h*, y 347, *f*, *g*, *h*). — Habitan en la parte más profunda de la zona de los granos internos y sus expansiones todas dirígense hacia abajo, ramificándose en la zona plexiforme interna, donde acabarían, en sentir de varios autores, formando redes horizon-

(1) Como lo característico de los espongioblastos es carecer de cilindroeje ó expansión larga, nosotros los hemos designado *células amacrinas* de α, partícula privativa, μακρὸς largo, é ινος fibra. Véase *Cajal: La rétine des vertebrés. La Cellule*, tomo IX, 1892.

tales. Nuestras observaciones, tocante á estos singulares corpúsculos (exentos de cilindro-eje, como ha demostrado Dogiel), nos permite afirmar los siguientes extremos:

1.° Cada uno de los cuatro ó cinco pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna, posee sus amacrinas propias, ó en otros términos, entre estos elementos cabe distinguir cuatro ó cinco categorías, según el plano de la zona mencionada á donde envían su arborización terminal. Hay, pues, espongioblastos ó amacrinas cuyo tallo ó tallos se ramifican en el primer piso; espongioblastos cuya expansión se arboriza en el segundo, y así sucesivamente (fig. 347).

2.° Además de las amacrinas, que sólo suministran ramitas para un piso de la zona plexiforme interna, y que por tal disposición pueden calificarse de *estratificadas,* existen otras cuyas expansiones se distribuyen por casi todo el espesor de dicha zona, por lo que pueden llamarse *amacrinas difusas* (figs. 354, K, *n,* y 347, *m, n).* No obstante, la mayor parte de las ramitas de éstas se acumula en el piso más inferior.

3.° A cada piso de la zona plexiforme interna donde se acumulan tantas arborizaciones de amacrinas, vienen á converger por debajo extensas ramificaciones horizontales formadas por las expansiones protoplásmicas de los corpúsculos ganglionares.

En resumen: cada piso parece constar: de un plano externo formado por las ramitas de las amacrinas; un plano interno constituído por las arborizaciones de las células ganglionares mono-estratificadas y un plano medio donde se alinean los penachos inferiores de las células bipolares para cono, y acaso (aunque esto no está probado aún), algunos otros pertenecientes á las de bastón. Estos tres plexos de fibras no están rigurosamente separados, pues las ramas de cada uno suben ó bajan en diferentes puntos, entrelazándose íntimamente y formando una especie de fieltro tupidísimo.

Nuestros estudios (1) realizados en la retina de las aves nos han probado la existencia de un tipo especial de espongioblastos, que hemos llamado *espongioblastos de asociación.* Trátase

(1) *Cajal:* Nouvelles contributions à l'étude histologique de la rétine, &. *Jour. de l'Anat. et de la Physiol.,* &. Tomo XXXII, núm. 5, 1896.

de células piriformes, de cuya expansión única y descendente brotan dos clases de expansiones: dos ó tres cortas, groseras, con aspecto de apéndices protoplásmicos, que se ramifican en el plano más externo de la capa plexiforme interna; y un axon ó prolongación larguísima, horizontal, que caminando por el espesor del cuarto externo de la citada plexiforme, se dilata en una arborización horizontal sumamente tupida. Esta arborización entra en relación con los tallos descendentes de un grupo de amacrinas, situado á gran distancia; acaso se pongan también en contacto con las expansiones descendentes de las bipolares. Detalle interesante: con los somas de los referidos espongioblastos de asociación mantienen conexión las arborizaciones terminales de las fibras centrífugas.

Capa plexiforme interna (fig. 342, J).—Con lo anteriormente expuesto queda substancialmente descrita esta zona retiniana. Ella representa el punto de empalme de tres especies celulares: los *espongioblastos,* las *células bipolares* y los *corpúsculos ganglionares.* En los mamíferos esta capa encierra además, aunque con rareza, algunos espongioblastos horizontales, cuyas ramas se pierden en uno de los varios pisos antes descritos.

A fin de multiplicar las superficies de influencia y evitar las comunicaciones en masa que hubieran perjudicado á la individualidad y pureza de las transmisiones, la naturaleza ha dispuesto que los encuentros de tales elementos se verifiquen en ciertas zonas ó pisos concéntricos. Cuanto más pequeñas y numerosas son las células bipolares de un animal, mayor es el espesor y número de pisos de la zona plexiforme interna.

Capa de las células ganglionares (figs. 342, H, y 348, K, J, G).—Asi llamada por contener una ó dos hileras de células nerviosas, gruesas, granulosas y en un todo comparables á las de las astas anteriores de la médula. Como es bien sabido, tales células poseen un cilindro-eje continuado con una fibra del nervio óptico, un cuerpo ovoideo, piriforme ó semilunar, y expansiones protoplásmicas que, partiendo exclusivamente de la cara superior de aquél, se arborizan en plexos horizontales á diferentes alturas de la capa plexiforme interna. También aquí cabe hacer distinciones, según la forma de la arborización protoplásmica supe-

rior. Todas las células ganglionares pueden distribuirse en tres clases:

1.ª *Células mono-estratificadas* (fig. 348, *g, h),* cuyo ramaje protoplasmático se extiende por un sólo piso de la zona plexiforme interna. Siendo cuatro ó cinco estos pisos, hay células cuya arborización se terminará en el primero; otras, que enviarán sus expansiones al segundo; otras, que las remitirán al tercero, y así sucesivamente.

2.ª *Células poli-estratificadas* (fig. 355, *s),* cuyo ramaje protoplásmico forma dos ó más plexos concéntricos correspondientes á igual número de pisos de la capa plexiforme interna.

3.ª *Células difusas,* cuya arborización ascendente es laxa y se distribuye, sin estratificarse, en casi todo el espesor de la zona mencionada. Tocante al tamaño, podrían distinguirse las células ganglionares en pequeñas, medianas y gigantes.

Entre las células ganglionares yacen también algunas amacrinas diminutas, de penacho singularmente delicado y extendido por el piso cuarto de la zona plexiforme interna *(amacrinas dislocadas).* Alguna vez, según hemos demostrado (fig. 355, *r),* se dislocan las ganglionares, habitando la zona plexiforme interna (mamíferos) y aun la de las células bipolares (aves y reptiles).

Capa de las fibras del nervio óptico.—La mayor parte de los cilindros-ejes constitutivos de esta zona son simple continuación de las expansiones inferiores ó funcionales de las células ganglionares. Pero un contingente de las tales debe considerarse como *fibras centrífugas,* cuyo origen es preciso buscar en los centros ópticos. Estas fibras, descubiertas primeramente por nosotros en la retina de las aves, adivinadas también por Monakow por inducciones basadas en estudios de anatomía patológica, y confirmadas por Dogiel, son gruesas, cruzan perpendicularmente la zona plexiforme interna, y acaban entre los cuerpos de los espongioblastos á beneficio de una ramificación corta, de ramitas espesas y fuertemente varicosas. Un estudio cuidadoso de estas ramificaciones en la retina de las aves (fig. 349, *b),* demuestra que la mayor parte de las ramitas terminales engendra un nido en torno de los cuerpos de los espongioblastos de asociación; otras ramitas se distribuyen por entre las amacrinas

ordinarias *(c)*. La extensión de la arborización terminal varía en las distintas especies animales; breve y casi reducida al nido pericelular en los pájaros y gallina, alcanza mayor extensión y difusión en la paloma, donde es facilísima de teñir con el azul de metileno.

Entre las fibras nerviosas de la capa que estudiamos, se ve un gran número de células de neuroglia, las cuales son también muy abundantes en la papila y espesor del nervio óptico (figu-

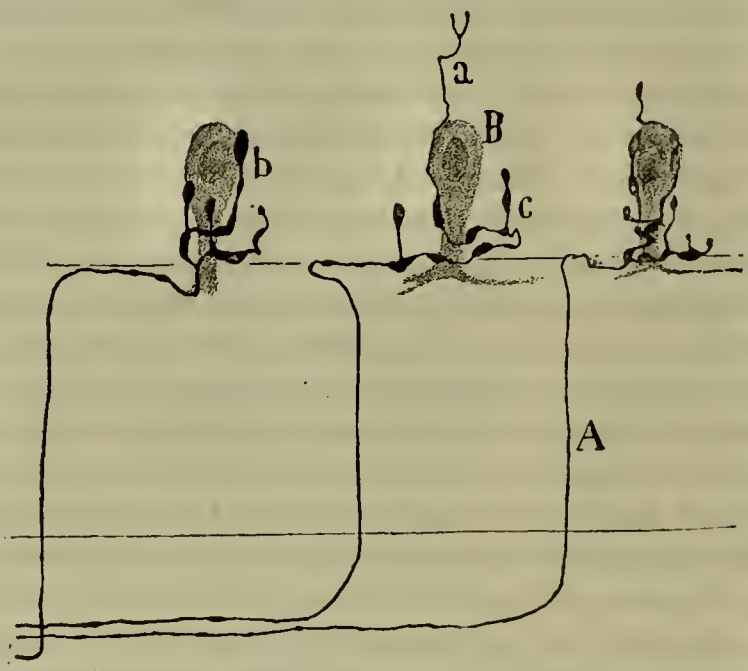

Fig. 349. — Fibras centrífugas de la retina de las aves. Coloración por el método de Ehrlich-Bethe. — A, fibra nerviosa; B, célula rodeada por la arborización; *a, b, c,* ramitas varicosas terminales.

ra 344, C). Estas células en araña poseen numerosísimas expansiones granulosas, que, interponiéndose á los cilindros-ejes, impiden el contacto de éstos.

Limitante interna. — Está constituída exclusivamente por la reunión en membrana continua de los extremos internos de las fibras de Müller (fig. 343, J), y es una cutícula hialina y correctamente contorneada, cuya cara interna es libre, mientras que la externa recibe el cono terminal de las citadas fibras.

Para terminar estos apuntes sobre la estructura de la retina, consignemos algunos datos referentes á la textura de sus neuronas.

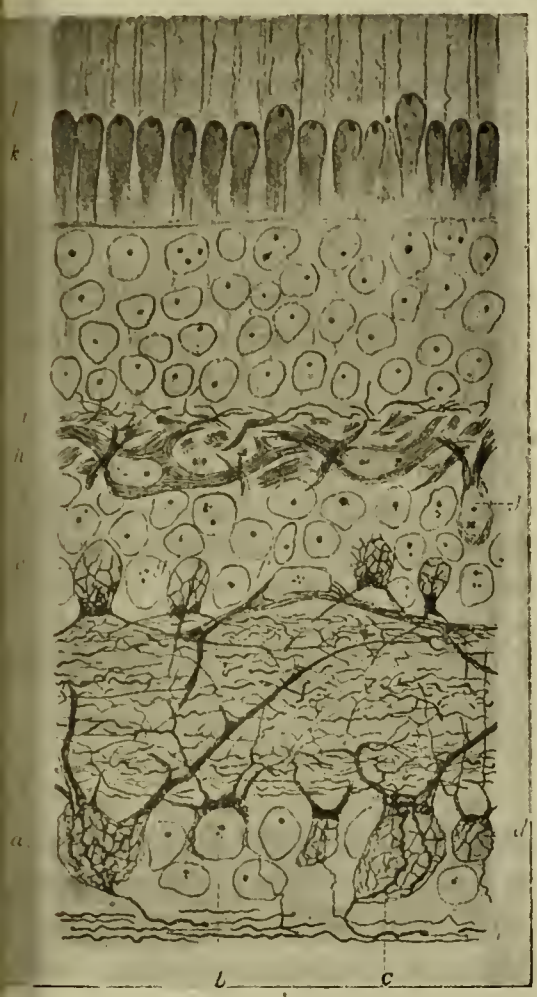

Fig. 350.—Neurofibrillas de la retina del gato joven. Método del nitrato de plata reducido; *a*, red de las células ganglionares; *c*, de las amacrinas; *h*, de los corpúsculos horizontales; *k*, articulo interno de los bastones; *l*, pequeña célula ganglionar.

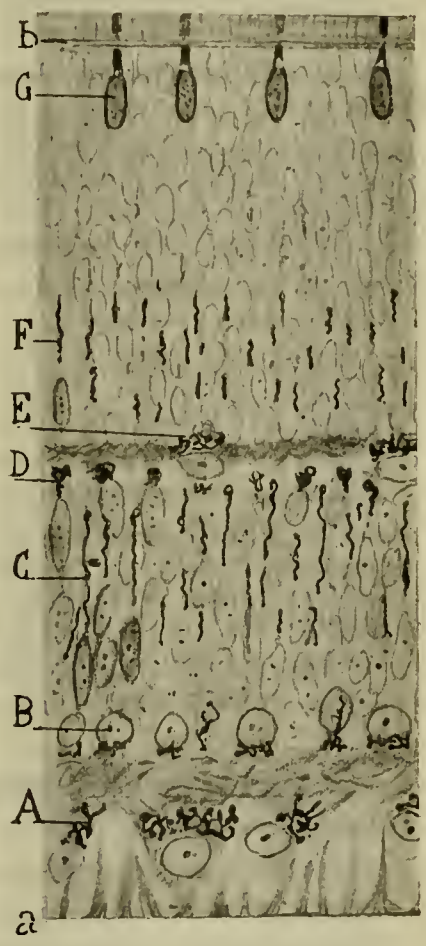

Fig. 351.—Aparato de Golgi de las células retinianas impregnadas con el método del formol-urano. A, células gangliónicas; B, D, amacrinas; C, bipolares; E, células horizontales; F, cuerpo de las células visuales; G, conos; *a*, *b*, limitantes (gato de veinte días).

Las células nerviosas de la retina coinciden estructuralmente con las neuronas del cerebro ó cerebelo. Aparte del núcleo y del neuroplasma, encierran el armazón neurofibrillar, los grumos cromáticos de Nissl y el aparato de Golgi.

El *armazón fibrillar*, primeramente observado por Embden (mé-

todo de Bethe), fué estudiado circunstancialmente por nosotros, van der Stricht y Sala. Muy rico, y de tipo fascículado en las grandes células ganglionares, muéstrase laxo y de carácter reticulado en las pequeñas neuronas, así como en los elementos amacrinos ó espongioblastos (fig. 350). Pero donde este esqueleto alcanza enorme desenvolvimiento es en las grandes células horizontales *(h, i)*, cuyo soma y expansiones gigantescas alojan haces neurofibrillares finísimos, que el método del nitrato de plata reducido impregna en rojo intenso. En cambio, sólo rara vez se descubren neurofibrillas en los elementos bipolares (van der Stricht) y hasta ahora no se han percibido en los conos y bastones.

Grumos de Nissl basiófilos, bien acusados, preséntanse solamente en las neuronas de la capa ganglionar y en tal cual espongioblasto de excepcional volumen.

En fin, el *aparato de Golgi,* señalado primeramente por nosotros (1910) en los gruesos corpúsculos gangliónicos, se revela en todos los elementos retinianos cuando la impregnación (proceder del urano-formol) recae en animales de pocos días. La forma del citado aparato varía mucho, según mostramos en la figura 351, en cada tipo neuronal; en general, subordínase á la figura de éste. Así afecta disposición de red yuxtanuclear extensa (fig. 351, A) en las neuronas grandes; de pequeño y aplanado glomérulo, localizado entre el núcleo y el ramaje protoplásmico, en las células amacrinas (B); y de simple cordón axial contenido en la expansión protoplásmica ó externa, en las bipolares (C) y cuerpo de las células visuales (F).

Marcha de las excitaciones luminosas en la retina. — Después de lo expuesto, nada más fácil que seguir el camino de la impresión recolectada por los bastones y conos. Mas como las conexiones de unos y otros son diversas, y es sumamente probable que cada especie de células visuales sea afectada por una cualidad diversa de la luz (los bastones por la intensidad luminosa incolora, los conos por los colores), conviene investigar separadamente el camino de la impresión recibida por ambas especies de corpúsculos visuales (fig. 352).

Impresión recibida por los bastones (fig. 352, *c*).—Es llevada primeramente á la zona plexiforme externa, donde la toman las bipolares de penacho ascendente ó de bastón, para conducirla al cuerpo mismo de las células ganglionares gigantes; desde este punto, el movimiento se propaga á lo largo de las cilindros-ejes de la capa de las fibras ópticas, corre después por los nervios

y cintas ópticas, y acaba en los cuerpos geniculados externos y tubérculos cuadrigéminos anteriores, donde se pone en conflicto con los penachos protoplásmicos periféricos de ciertas células nerviosas yacentes en estos órganos (fig. 352, *g*).

En el lóbulo óptico de las aves, donde nosotros logramos por primera vez precisar el modo de terminación de las fibras del nervio óptico, éstas se descomponen en magníficas arborizaciones libres, cada una de las que se pone en relación con la expansión protoplasmática de varias células fusiformes. Cosa análoga se observa en el tub. cuadrig. anterior de los mamíferos, donde recientemente hemos acertado á impregnar las fibras ópticas terminales (fig. 352, *g*).

Impresión recibida por los conos.—Es desde luego conducida al piso profundo de la zona reticular externa, donde la recogen los penachos aplanados de las bipolares de cono; después, según sea la bipolar impresionada, la corriente se dirige á uno de los varios plexos de la zona plexiforme interna, donde la reciben los penachos protoplasmáticos de las células ganglionares; finalmente, los cilindros-ejes de éstas se encargan de la conducción ulterior hasta los centros ópticos (fig. 352, *b, d*).

De la disposición de las vías conductrices retinianas y centrales, se siguen las siguientes importantes consecuencias:

1.ª Las impresiones suscitadas en las células visuales son siempre recogidas por expansiones protoplásmicas, llevadas por cilindros-ejes y aplicadas por arborizaciones de fibras nerviosas; es decir, que los corpúsculos retinianos, como los del bulbo olfatorio y los de todos los demás centros donde el sentido de la corriente es manifiesto, poseen un aparato de *absorción de corrientes* (cuerpo celular y expansiones protoplásmicas), y otro de *conducción y emisión de las mismas* (cilindro-eje y su arborización final).

2.ª La conmoción retiniana no se propaga por una sola línea radial de elementos, sino por un grupo de células empalmadas; de suerte, que cuanta más profundidad alcanza el movimiento, mayor número de elementos participan en la conducción. Por ejemplo: la impresión aportada por un cono es recogida por varias bipolares de penacho aplanado, y como éstas envían por

abajo el penacho terminal á pisos distintos de la zona plexiforme interna, resulta que pueden participar en la conducción diversas ganglionares, tantas por lo menos como bipolares. Por último, en los centros ópticos cada fibra de la cinta óptica toca, por sus extensas arborizaciones libres, á varios corpúsculos ganglionares.

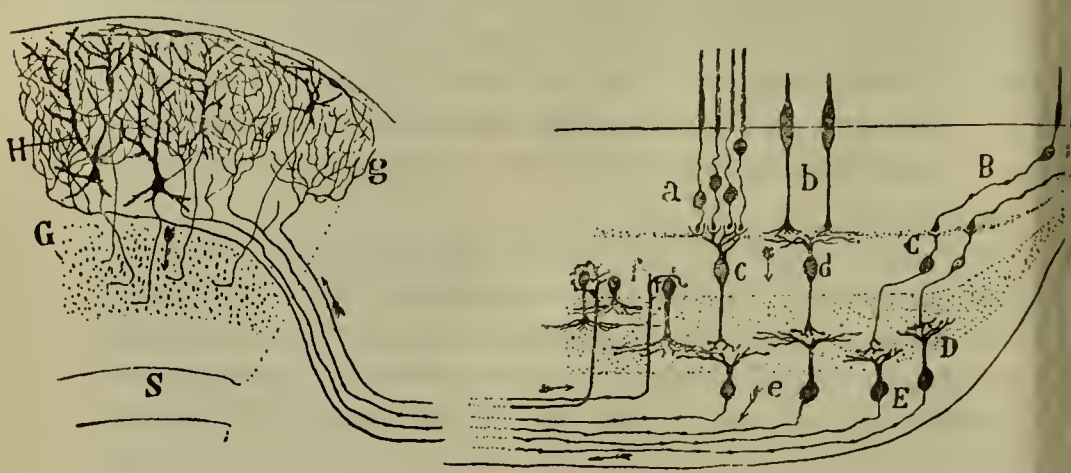

Fig. 352.—Esquema de la marcha probable de las corrientes en la retina y centros ópticos. — A, conos de la foseta central; B, cuerpo de los conos; C, enlace entre los conos y las bipolares de la foseta; D, unión de las bipolares con las células ganglionares; F, foseta; H, células nerviosas del tubérculo cuadrigémino anterior; *a*, cuerpos de bastón; *b*, cuerpos de cono de una región ordinaria de la retina; *c*, bipolar para bastones; *d*, bipolar para conos; *e*, células ganglionares; *f*, arborizaciones sobre los espongioblastos de fibras llegadas de los centros ópticos.

3.ª Los centros nerviosos obrarían también sobre la retina á favor de las fibras centrífugas, por las cuales llegaría una corriente destinada á difundirse por los espongioblastos. El objeto de esta influencia es actualmente desconocido.

En la figura 352, *f*, mostramos la corriente aportada por las fibras centrífugas, las cuales se terminan en las aves sobre el cuerpo de un elemento especial ausente, al parecer, en los mamíferos y descubierto por nosotros (nuestra *célula amacrina de asociación*). Mediante el axon horizontal de este corpúsculo la corriente abordaría las amacrinas ordinarias, y desde ellas, la articulación de las gangliónicas con las bipolares de cono, á donde llevaría alguna acción particular indispensable á la buena transmisión de la impresión luminosa. Los partidarios de la teoría del amiboidismo nervioso de Duval suponen

que la mencionada corriente obraría poniendo en turgescencia el protoplasma de las células en contacto y, por consiguiente, ajustando la articulación entre bipolares y gangliónicas, con que las corrientes recolectadas por los conos pasarían fácilmente hacia los centros.

Foseta central de la retina.—El paraje de esta membrana correspondiente al extremo posterior del eje del globo ocular, presenta un punto adelgazado, producido por una excavación de 1 á 2 milímetros de diámetro, á cuyo nivel la capa ganglionar, la

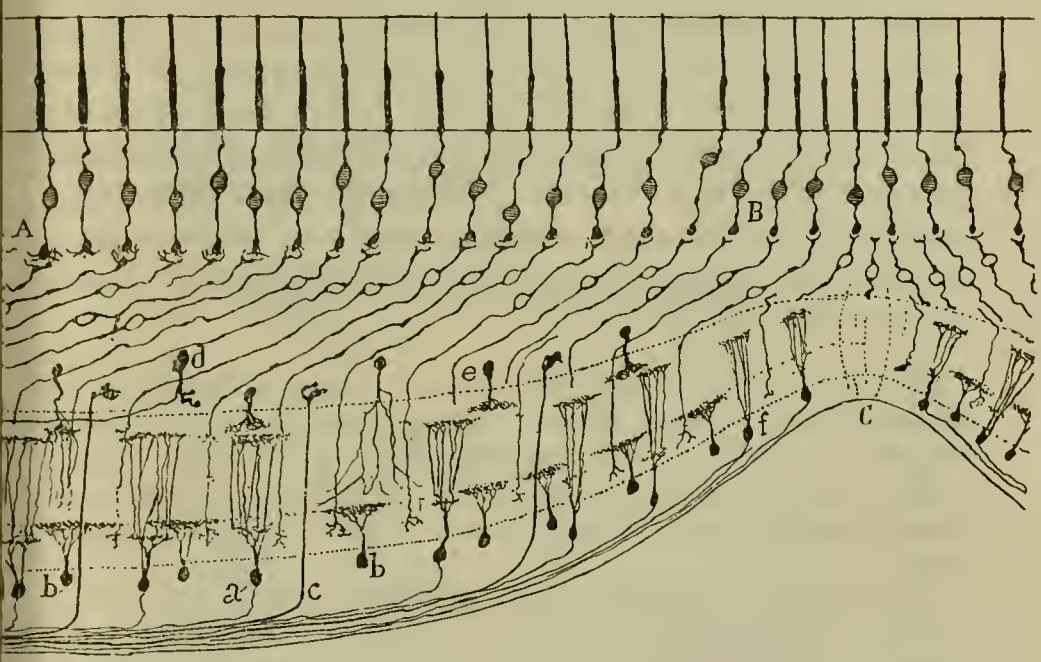

Fig. 353. — Corte de la foseta central de la retina de las aves (gorrión). — A, cuerpos de los conos en la periferia; B, en la foseta; *a*, gangliónica de dendritas finas; *d*, amacrina de asociación; *b*, amacrina dislocada.

plexiforme interna y una buena parte de la de los granos internos, han desaparecido ó disminuído notablemente de espesor (figuras 352, F y 353, C). En cambio la zona de los cuerpos de las células visuales alcanza un gran desarrollo, y las fibras descendentes de los conos marchan oblicuamente hacia los bordes de la foseta y en dirección radiada. En la capa de los conos y bastones no existen más que conos, los cuales son aquí mucho más finos que en el resto de la retina (figs. 352, A y 353, B).

Nuestras observaciones en la retina de las aves y reptiles,

donde la *fovea* se halla muy desarrollada, nos permiten afirmar un hecho de cierta importancia, á saber: que el pie terminal de los conos, al llegar á la zona plexiforme externa, no suministra ramillas, sino que forma una especie de grano abrazado inferiormente por un diminuto penacho, continuado con las bipolares de la zona subsiguiente (fig. 353, B). De este modo el movimiento recogido por un cono se propagaría sin comunicaciones laterales á una sola bipolar, y ésta lo transmitiría quizás á una sola célula ganglionar también, lo que explicaría la notable acuidad visual de la *fovea centralis*. Por lo demás, los penachos descendentes de las bipolares, las células ganglionares, etc., se disponen substancialmente como en el resto de la retina; solamente que, á consecuencia de la pérdida de substancia que representa la foseta, todos estos elementos están inclinados hacia afuera, y muchos de los enlazados dinámicamente con los conos de la *fovea*, se ven obligados á residir en los bordes de ésta, y hasta en zonas más lejanas.

Retina de los vertebrados inferiores. — Hemos hablado ya de las notables variantes morfológicas y estructurales que caracterizaban los conos y bastones de los vertebrados inferiores. Ahora vamos á añadir algunas noticias sobre la disposición de las demás zonas retinianas construídas en lo esencial según el plan de las de los mamíferos.

En los *peces*, la zona más variada es la de las células horizontales, en la cual habitan varias líneas de corpúsculos colosales, apretados y sumamente espesos, entre los que resaltan por singulares los más profundos, fusiformes y dotados de brazos robustos y larguísimos. Notables son también por lo vigorosas las bipolares de bastones, acabadas á favor de un pie recortado y grosero, sobre el cuerpo de los corpúsculos gangliónicos.

En los *batracios* son de notar la existencia de dos clases de bastones (con artículo interno delgado y con artículo interno grueso (figura 354, *a* y *b*) y la cortedad relativa de los conos (fig. 354, *c*). Las bipolares, asimismo de dos especies, suelen exhibir una fina expansión radial (maza de Landolt), terminada al nivel de la limitante externa (*f*). A veces, el grano de la bipolar reside al nivel de los cuerpos de los conos (*e*). Inferiormente ofrecen estos mismos corpúsculos penachos colaterales extendidos por los pisos de la plexiforme interna. Reparemos, además, en las amacrinas mono-polares y mono-estratificadas de finas y larguísimas radiaciones horizontales (fig. 354, *r*, *s*).

En los reptiles (fig. 355, *a*), los conos, bastante prolongados, encierran también, como los de las aves, esferas coloreadas, y sus granos, prolongados verticalmente, se ordenan en dos ó tres pisos. Vénse conos gemelos, es decir, formados por dos cuerpos, de los que uno ofrece una cavidad para la recepción del otro y envía su gránulo inferior

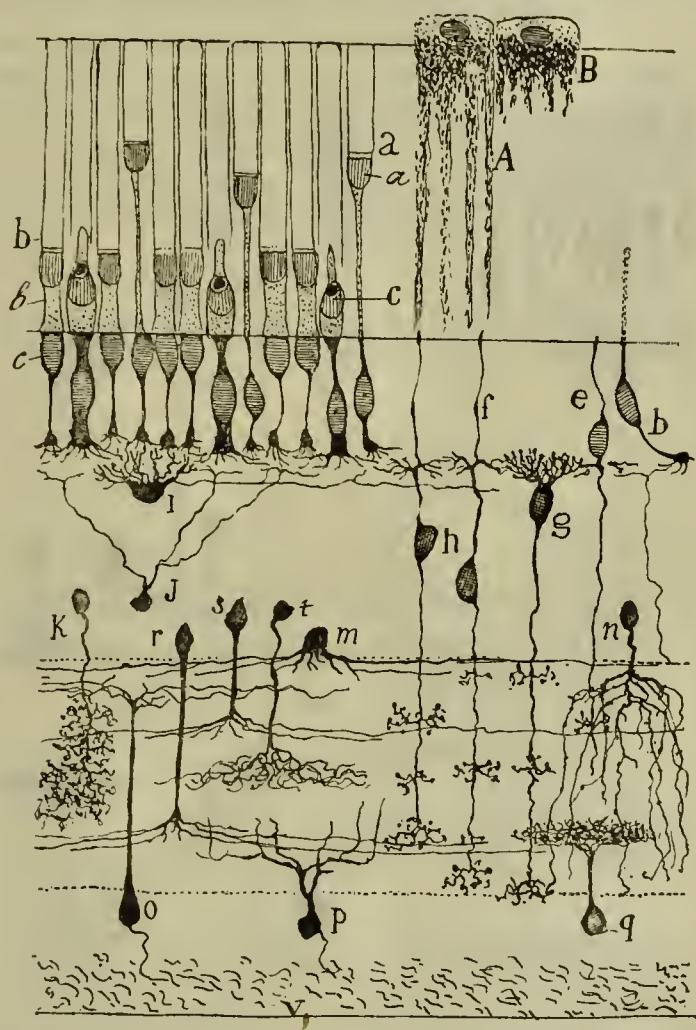

Fig. 354. — Retina de la rana (figura semi-esquemática). — *a*, bastón de maza; *b*, bastón ordinario; C, cono; *c*, grano del cono; *i*, célula horizontal; *e*, bipolar dislocada; *f*, maza de Landolt; *h*, bipolares; *r*, *n*, *m*, amacrinas; *o*, *p*, células gangliónicas.

á plano distinto de la capa plexiforme que el compañero (*b*). Las células horizontales son pequeñas y están provistas de una fina brocha ascendente de dendritas (*g*). En fin, las amacrinas exhiben formas variadísimas y elegantes, á las que no van en zaga las gangliónicas pluri-estratificadas, de cuya belleza y complicación damos idea en la

figura 355, *s*. Añadamos aún la existencia de gangliónicas dislocadas (*h*) y residentes entre las amacrinas, la de bipolares dislocadas (*d*), y por último, la de amacrinas finas, descendidas al piso de los elementos gangliónicos (*r*).

En las aves reconócense todas las particularidades de la retina de los reptiles, aumentando, si cabe, la riqueza, variedad y complicación

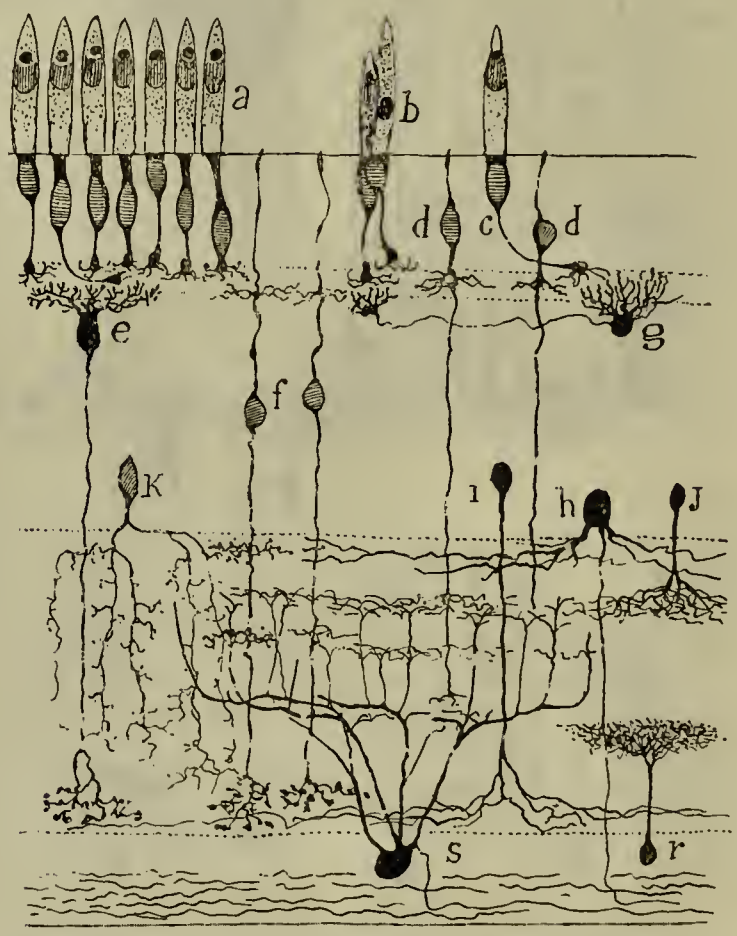

Fig. 355. — Retina de un reptil (figura semi-esquemática). — *a*, conos; *b*, conos gemelos; *d*, bipolar dislocada; *e*, bipolar especial sin mazas de Landolt; *j*, *k*, *i*, amacrinas; *s*, células gangliónicas; *r*, amacrina dislocada; *h*, ganglionar dislocada.

de forma, de amacrinas y gangliónicas (fig. 353). Las bipolares están dotadas á menudo de mazas de Landolt y sus fibras descendentes generan varios pisos horizontales. No faltan tampoco conos gemelos, amacrinas y gangliónicas dislocadas. Esta retina ofrece además un singular corpúsculo hasta hoy no sorprendido en los demás vertebrados, á saber: la amacrina de asociación ya mencionada, provista de

cuerpo piriforme, dendrita corta inferior y un larguísimo axon horizontal ramificado en la frontera de la zona plexiforme interna. Ya dejamos consignado más atrás que sobre dicho interesante corpúsculo se ramifican las fibras centrífugas, robustísimas y fáciles de teñir en las aves. En el buho, lechuza, etc., los conos son escasos, dominando los bastones, que se comportan en la zona de los granos externos casi del mismo modo que en la retina de los mamíferos.

También las fibras de Müller experimentan interesantes mutaciones en los vertebrados inferiores. Semejantes variantes se refieren, sobre todo, á la porción inferior, que en las aves y reptiles se descomponen en un magnífico penacho de hilos terminados por otros tantos conos en la capa limitante interna.

CAPÍTULO XXIV

TEXTURA FUNDAMENTAL DE LOS CENTROS NERVIOSOS
ESTRUCTURA DE LA MÉDULA ESPINAL
ESTRUCTURA DE LOS GANGLIOS SENSITIVOS

Textura de los centros nerviosos. — Todo centro nervioso, la médula, el cerebro, cerebelo, etc., consta de dos tramas de composición diferente: la *substancia blanca* y la *substancia gris*.

La *substancia blanca* resulta de la reunión de las fibras nerviosas nacidas en la substancia gris, y las cuales se continúan con la expansión funcional de los corpúsculos de cilindro-eje largo. Estas fibras son meduladas y carecen de núcleos, de membrana de Schwann y de cisuras de Lantermann, pero poseen estrangulaciones de Ranvier, las cuales se ponen de manifiesto por el método de Ehrlich (fig. 356). El azul de metilo tiñe muy intensamente el axon al nivel de las estrangulaciones, comprobándose también aquella ley, más atrás enunciada, á saber: toda bifurcación ó emergencia de colateral se verifican al nivel de una estrangulación. Asimismo cabe establecer en ésta la existencia en torno del axon de un cemento dispuesto, no en disco, sino en forma de tubo más ó menos prolongado, mediante el cual se juntan los extremos de la mielina, que se hallan mucho más separados entre sí en los tubos centrales que en los periféricos. En ciertas fibras, la porción del axon rodeada del cemento, aparece decolorada, con lo que la estrangulación resulta formada por dos bandas azules limitadas por una zona incolora ó débilmente teñida (1). Entre ellas existe un plexo tupido formado por el entrecruzamiento de las expansiones de las células neuróglicas.

(1) *Cajal:* El azul de metileno en los centros nerviosos, *Revista trimestral micrográfica,* núm. 4, 1896.

La *substancia gris* está constituída por las siguientes partes: 1.ª, células nerviosas de cilindro-eje largo; 2.ª, células nerviosas de cilindro-eje corto; 3.ª, fibras nerviosas terminales arribadas de otros centros; 4.ª, un plexo de finas ramitas colaterales emanadas, tanto de los tubos de la substancia blanca contigua, como del trayecto *intra-gris* de los cilindros ejes largos, cuyas células

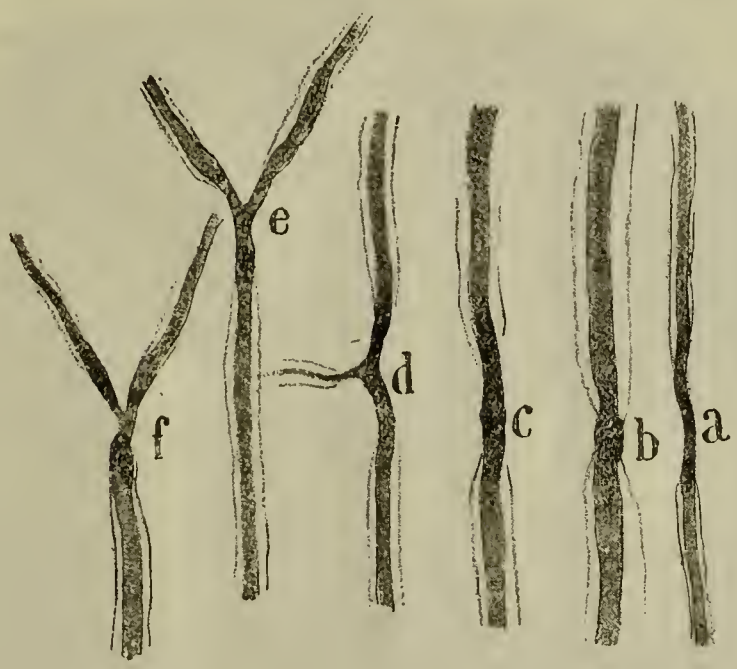

Fig. 356. — Detalles de las estrangulaciones de la substancia blanca del cerebro del gato. Método de Ehrlich. — *a, b, c,* estrangulaciones; *d,* nacimiento de una rama colateral; *e, f,* bifurcaciones.

de origen habitan en la substancia gris. En algunas regiones de los centros, la substancia gris contiene también células de neuroglia.

Los centros de substancia gris, cuya disposición estructural ofrece caracteres especiales bastante conocidos, son: la médula espinal, el cerebelo, el cerebro, el bulbo olfatorio y los ganglios cerebro-raquídeos y simpáticos.

Médula espinal. — Cuando se examina al microscopio un corte de médula espinal, teñido por el carmín ó por la hematoxilina, obsérvanse dos partes de aspecto diverso: una periférica constituída por tubos nerviosos longitudinales paralelos al eje

de la médula y llamada *substancia blanca;* otra central formada por células nerviosas y un plexo de fibrillas ó ramificaciones de cilindros-ejes (astas de substancia gris). En el eje de la substancia central ó gris yace un conducto fino prolongado con las cavidades del encéfalo.

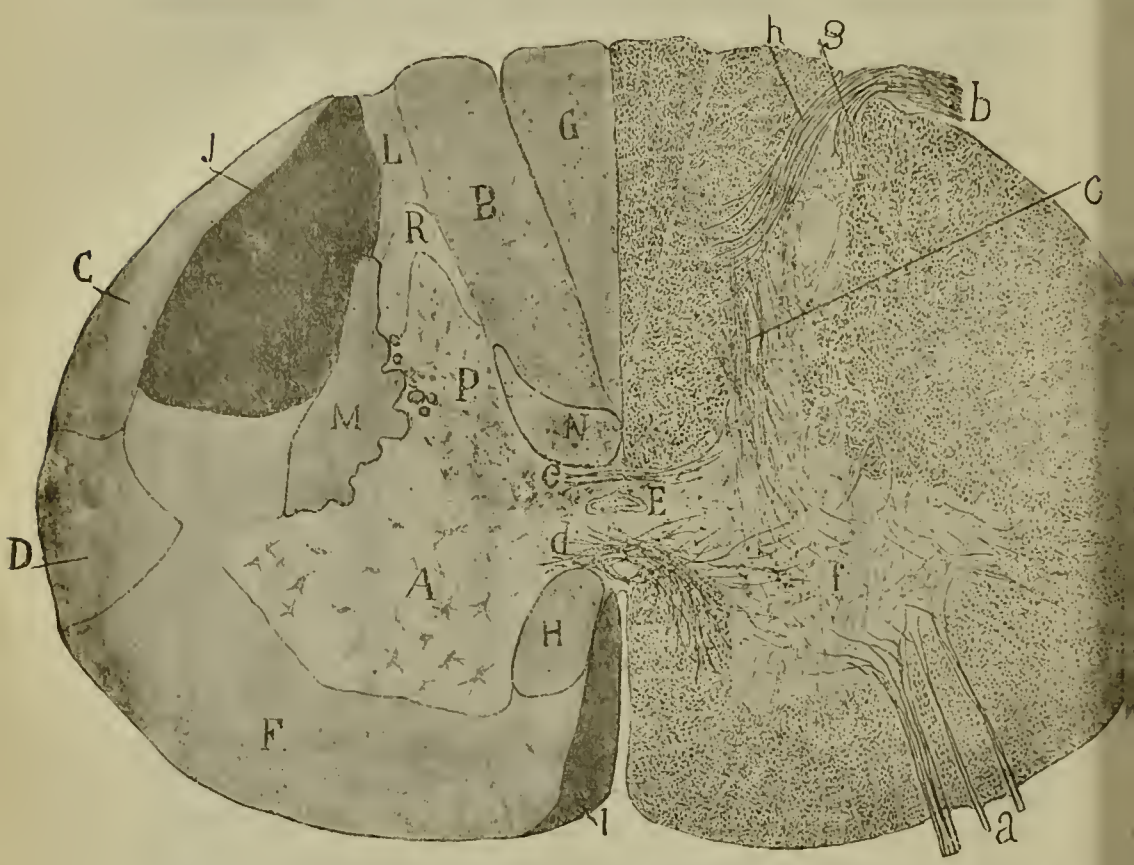

Fig. 357. — Corte transversal de la médula cervical del hombre. A la derecha representamos las fibras nerviosas meduladas; á la izquierda los diversos manojos en que se divide la substancia blanca. — A, asta anterior; B, asta posterior; R, substancia de Rolando; B, cordón de Burdach; G, cordón de Goll; J, vía piramidal cruzada; I, vía piramidal directa; C, fascículo cerebeloso ascendente; D, fascículo de Gowers; F, porción fundamental del cordón antero-lateral; M, manojo del asta posterior; H, manojo de fibras comisurales; L, zona marginal de Lissauer; N, porción fundamental del cordón posterior; *a*, raíz anterior; *b*, raíz posterior; *c*, haz reflejo-motor; *d*, comisura anterior; *e*, comisura posterior; *f*, fibras del asta anterior.

Topografía de la substancia blanca. — Considerando el conjunto de la substancia blanca, se ve que está dividida en dos mitades laterales por dos surcos longitudinales medios, uno anterior y

otro posterior (fig. 357). Un delicado surco antero-lateral, poco aparente y correspondiente al arranque de las raíces anteriores *(a)*, y otro postero-lateral, más acusado y emplazado en la emergencia de las posteriores *(b)*, subdividen cada mitad de su substancia blanca en tres cordones: *anterior, lateral* y *posterior*. En la región cervical y parte de la dorsal, el cordón posterior todavía muestra una subdivisión en dos haces: el *interno* ó *cordón* de Goll (fig. 357, G), y el *externo* ó de Burdach (figura 357, B).

Los estudios anatómicos de estos últimos años, así como los resultados obtenidos por el método embriológico de Flechsig y el de las degeneraciones secundarias de Gudden, Charcot, Turck, etc., han revelado en la substancia blanca categorías ó sistemas de fibras, caracterizados por tener un mismo origen é idéntica significación fisiológica. En la figura 357 reproducimos estos sistemas de fibras, que son: 1.°, la *vía piramidal directa,* manojo descendente emplazado en el fondo de la cisura anterior, por dentro del cordón anterior (fig. 357, I); 2.°, la *vía piramidal cruzada,* manojo descendente mucho más robusto, situado en el espesor del cordón lateral, junto al posterior (figura 357, J); 3.°, la *vía cerebelosa ascendente,* que yace superficial por fuera de la vía piramidal cruzada (fig. 357, C); 4.°, el *fascículo antero-lateral ascendente* ó de Gowers (fig. 357, D), vía colocada por delante de la precedente y dirigida también al cerebelo (Lowenthal, Mott, etc.); 5.°, la *zona limitante del cordón lateral* (fig. 357, M) ó *manojo del asta posterior* (Cajal), vía corta emplazada por dentro de la piramidal cruzada, tocando á la substancia gris del asta posterior; 6.°, *zona marginal de Lissauer* (fig. 357, L), campo formado por fibras finísimas, situado detrás de la substancia de Rolando, junto á la entrada de la raíz posterior; 7.°, *manojo de las fibras comisurales* (Cajal), área de forma irregular, situada en lo interno del cordón anterior, por fuera y debajo de la vía piramidal directa (figura 357, H), etc.

Topografía de la substancia gris. — La substancia gris está concentrada en un eje vertical, del cual proceden cuatro aletas ó expansiones, llamadas *astas,* dos anteriores, anchas, redondea-

das, penetrantes en el espesor del cordón anterior (A); dos posteriores, más delgadas, que ingresan en el espesor del cordón posterior. El *asta posterior* comprende dos zonas de apariencia diversa: *asta posterior propiamente dicha,* constituída por células de mediana talla (fig. 357, P), y *substancia gelatinosa* de Rolando (fig. 357, R), especie de casquete que recubre el cabo posterior del asta y que consta de células pequeñísimas, separa-

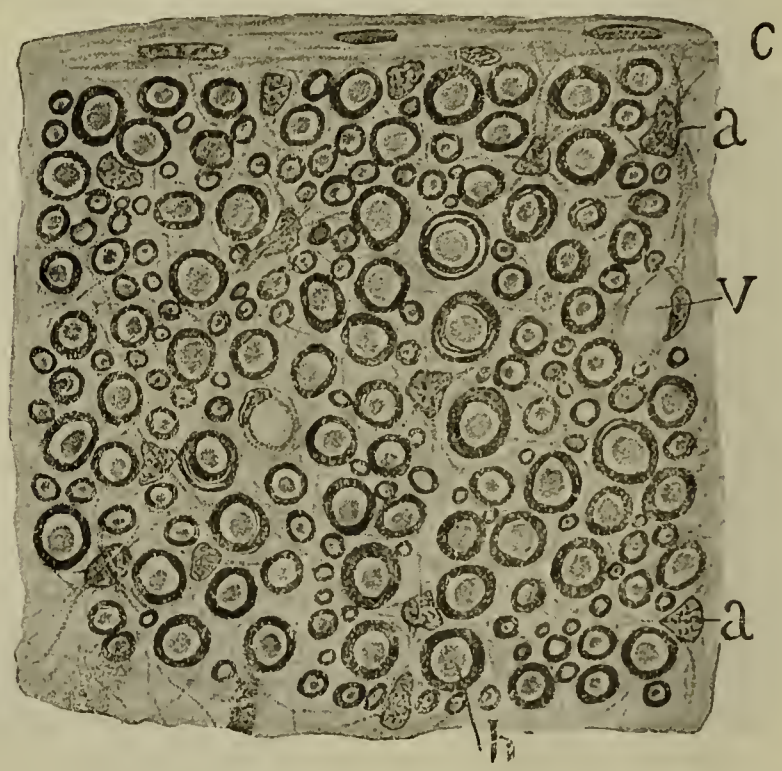

Fig. 358.—Trozo de corte transversal de la substancia blanca de la médula espinal del buey. Método del ácido ósmico. — *a*, célula de neuroglia; *b*, axon de un tubo medulado; *v*, vaso capilar; *c*, cubierta conectiva de la médula espinal.

das por plexos fibrilares apretados. En la región lumbar y parte de la dorsal, la porción interna de la base del asta posterior encierra un acúmulo celular vertical, que se ha designado *columna vesiculosa* de Clarke. Finalmente, entre las dos astas anteriores, y por bajo del fondo del surco anterior, existe un plano de fibras medulares *(d)* que parece juntar ambas astas *(comisura blanca ó anterior),* y entre las dos astas posteriores se hallan, como lazo de unión, dos ó tres cordones transversales de fibras

finas, en gran parte ameduladas, que han tomado el nombre de *comisura posterior* ó *gris* (fig. 357, *c*).

Textura de la substancia blanca. — Al microscopio aparece formada esta substancia por una infinidad de tubos nerviosos verticales, paralelos, de calibres muy diversos y separados por una trama tupida de células de neuroglia. Cada tubo nervioso contiene: un cilindro-eje colorable por el carmín, la vaina de Mauthner y algunas estrangulaciones prolongadas que se pueden distinguir en dos especies: estrangulaciones rectas exentas de colaterales, y estrangulaciones angulosas de las cuales brota una fibrilla colateral. En los tubos más espesos cabe sorprender también las cisuras de Lantermann (fig. 360).

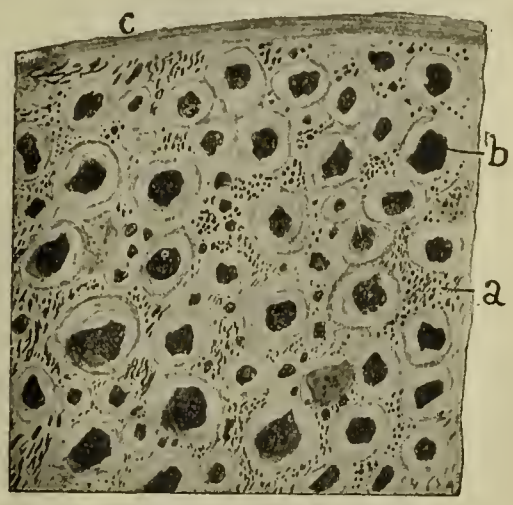

Fig. 359. — Trozo del cordón lateral de la médula del conejo. Método del nitrato de plata reducido. — *b*, axon de fibra gruesa; *a*, fibras finas ameduladas invisibles en los preparados del ácido ósmico.

Como dejamos dicho más atrás, el azul de metileno tiñe intensamente estas estrangulaciones, denunciando la existencia de un forro de cemento destinado á juntar los cabos de la mielina.

Cuando se examina con ayuda del método de Golgi la substancia blanca medular de embriones de ave ó de mamíferos, así como la de mamíferos recién nacidos, se advierte que las fibras nerviosas que la forman no son otra cosa que cilindros-ejes de células de la substancia gris, los cuales, después de marchar transversalmente hacia la periferia, se hacen verticales para reingresar, tras un curso más ó menos largo, en el espesor de las astas medulares. La mayoría de estas fibras poseen vaina medular, pero existen también fibras finas, situadas entre las gruesas que carecen de cubierta mielínica, según ponen de manifiesto los preparados neurofibrillares.

La mayor parte de estos cilindros-ejes acaban mediante arborizaciones extensas, varicosas y libres en el interior de la substancia gris, donde se ponen en íntimo contacto con corpúsculos nerviosos. Representan, pues, estos cilindros-ejes verdaderas comisuras arciformes longitudinales tendidas entre dos ó más pisos de la substancia gris, disposición adivinada ya por los anatómicos antiguos, pero sólo probada hoy por las investigaciones de Golgi y las nuestras.

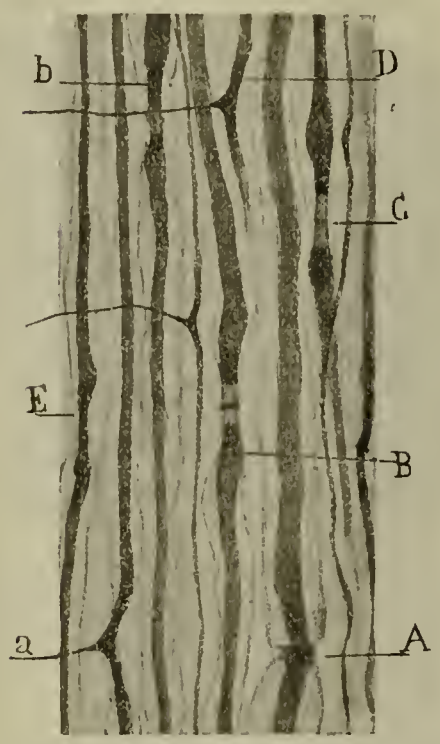

Fig. 360. — Tubos nerviosos de la substancia blanca de la médula del gato de un mes. Coloración por el método de Ehrlich. — A, estrangulación y disco de cemento; B, manguitos de Nageotte; C, E, estrangulaciones de tubos delgados; *a*, colateral brotada de una estrangulación.

Todas las fibras de la substancia blanca emiten de trecho en trecho finas ramitas colaterales, las cuales, penetrando horizontalmente en la substancia gris, se terminan en torno de las células nerviosas y de sus apéndices protoplásmicos, á beneficio de un penacho de fibras suavemente varicosas, espesas y completamente libres (figura 360, *a, b*). Estas colaterales constituyen, como ha hecho notar Kölliker, uno de los factores más importantes de la trama medular, y su disposición y conexiones varían en cada uno de los cordones. En estos últimos años hemos logrado confirmarlas también por los métodos de Ehrlich (1896) y el del nitrato de plata reducido (1903). Asimismo se coloran por el procedimiento de Simarro, según indicó este autor (1900).

1.° *Colaterales del cordón anterior* (figs. 367, B, y 365, *a*). — Son las más voluminosas, nacen de los gruesos cilindros-ejes de este cordón, marchan hacia atrás agrupadas en haces irregu-

lares y se ramifican en el espesor del asta anterior y más especialmente en torno de las células motrices. Una parte de estas colaterales gana la línea media y se ramifica en el asta anterior del otro lado, constituyendo la *comisura anterior de colate-*

Fig. 361. — Corte de una mitad de la médula del embrión de pollo. — A, rudimento del cordón posterior; B, raíz anterior formada por los axones de las células motrices; C, axones comisurales; D, células cuyo axon va al cordón anterior; H, célula cuyo axon iba al cordón lateral.

rales (fig. 367, C). 2.° *Colaterales del cordón lateral.* Se dirigen hacia adentro y se ramifican de preferencia en la región central de la substancia gris. Una porción de estas colaterales gana la comisura gris, cruza por detrás del epéndimo y se ramifica en la substancia gris del asta posterior (fig. 367, E). 3.° *Colaterales*

del cordón posterior. Nacen de la mayor parte del trayecto vertical de las ramas ascendente y descendente de las radiculares sensitivas, así como de fibras cortas constitutivas de la zona de Lissauer y porción anterior del cordón de Burdach. Estas colaterales forman cuatro grupos, á saber: a) *colaterales sensitivo-motrices* ó largas, las cuales, naciendo del cordón de Burdach, cerca de la entrada en éste de las radiculares sensitivas, dirígense hacia adelante, ramificándose en torno de las células motrices (fig. 367, H, B); b) *colaterales cortas* destinadas á la substancia de Rolando y asta posterior (fig. 367, G, I); c) *colaterales de la columna de Clarke,* las cuales brotan de la porción interna del cordón posterior y reunidas en haz postero-anterior, se arborizan en torno de las células de dicha columna (en la región cervical y dorsal estas colaterales se ramifican en un foco gris central en las inmediaciones del epéndimo) (figura 367, J); d) *colaterales para la comisura posterior,* las cuales, después de pasar por la porción más posterior del rafe (figura 367, D, E), se arborizan en el asta posterior del otro lado. Se ve, por lo expuesto, que la comisura posterior está constituída por tres manojos de colaterales: anterior, nacido del cordón antero-lateral; medio, brotado de la porción más posterior del lateral; posterior, partido de la porción más interna del posterior: todas estas colaterales cru-

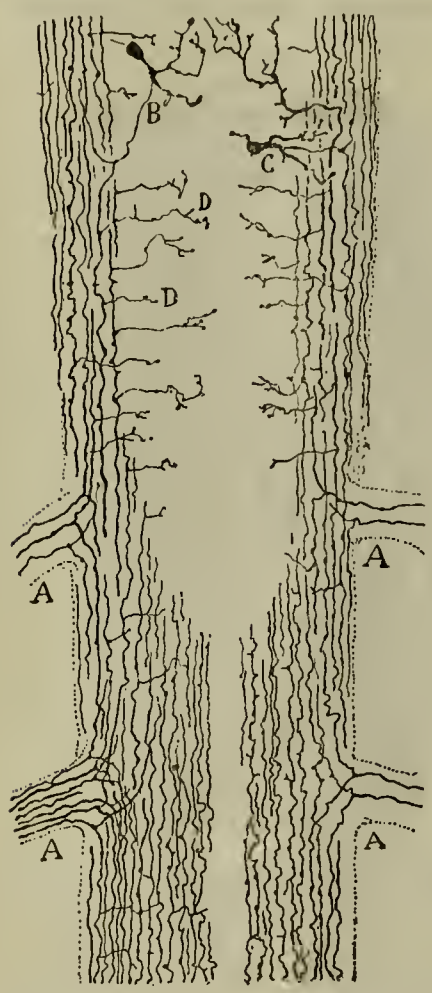

Fig. 362. — Raíces sensitivas medulares de la rana adulta. Corte longitudinal del cordón posterior de la médula espinal. — A, raíz posterior; B, célula del cordón posterior; D, colaterales sensitivas.

zadas se distribuyen en la substancia gris del otro lado, principalmente en la base del asta posterior.

En la figura 366 mostramos el conjunto de las colaterales sensitivas ó nacidas del cordón posterior. Nótese la enorme longitud y rica arborización terminal de las colaterales largas ó sensitivo-motrices, arborización en cuyos huecos residen los cuerpos de las neuronas motoras. En su camino (C), dichas colaterales emiten alguna ramilla para la substancia gris central.

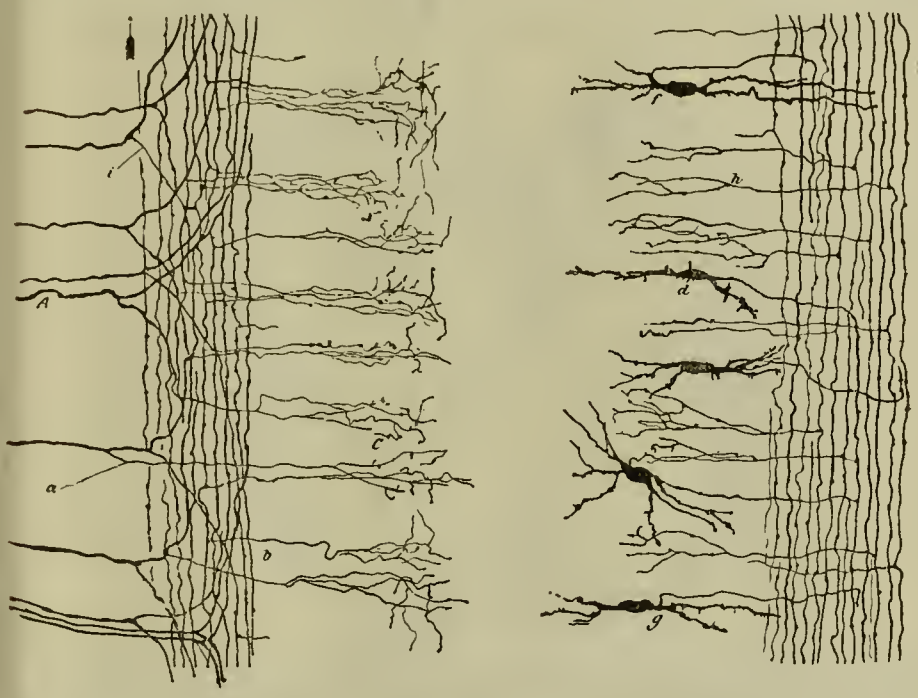

Fig. 363. — Corte longitudinal de la substancia blanca del embrión de pollo, donde se ven las raíces posteriores (A), sus colaterales *(b)* y las células y colaterales del cordón lateral *(d, f)*.

Repárese también en la citada figura un grupo de colaterales destinadas á una pléyade gangliónica de la médula cervical, situada no lejos del rafe (A), mientras que la mayoría acaban rodeando la pléyade principal ó extensa del foco motor (B).

Textura de la substancia gris. — Prescindiendo de la neuroglia, la substancia gris de la médula se compone: 1.°, de células nerviosas y sus expansiones protoplásmicas; 2.°, de los cilindros-ejes que estas células dirigen á la substancia blanca; 3.°, de ramificaciones de colaterales llegadas de la substancia blanca;

4.°, de arborizaciones finales de cilindros-ejes arribados de la substancia blanca ó de las raíces posteriores; 5.°, de colaterales emitidas á su paso por la substancia gris, por algunos cilindros-ejes destinados á la blanca.

Las propiedades morfológicas de los corpúsculos nerviosos discrepan poco en ambas astas, excepción hecha de la substancia de Rolando, donde habitan algunos elementos específicos; por

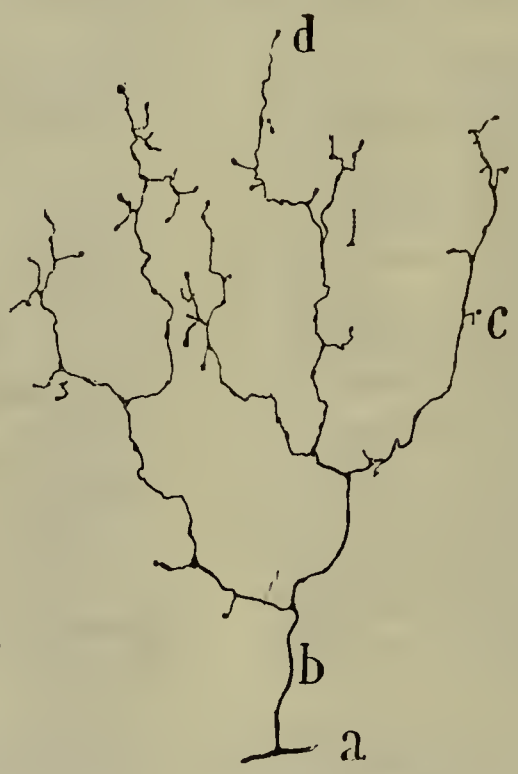

Fig. 364. — Detalles de la arborización terminal de una rama colateral de la substancia blanca.

lo cual la distinción que se establece en asta anterior y posterior, tiene una significación más topográfica que estructural. La única distinción que cabe hacer entre las células, estriba en el comportamiento de su cilindro-eje. Bajo este aspecto, nosotros separamos cinco especies ganglionares que aparecen representadas en las figuras 370, 371 y 372: 1.ª, *células radiculares;* 2.ª, *células comisurales;* 3.ª, *células de los cordones;* 4.ª, *células pluricordonales;* 5.ª, *células de cilindro corto.* Salvo la especie

última, cuyo cilindro-eje se pierde en la substancia gris, las cuatro primeras envían esta expansión á la substancia blanca, pudiendo calificarse de *células de cilindro-eje largo* (*motrices* de Golgi).

1.° *Células radiculares.*—Son corpúsculos gigantes, los más grandes de la médula, habitantes en la parte antero externa del asta anterior. Poseen un cilindro-eje espeso, comunmente exento de colaterales, que atraviesa radialmente el cordón antero-lateral para ingresar en la raíz motriz del par raquídeo corres-

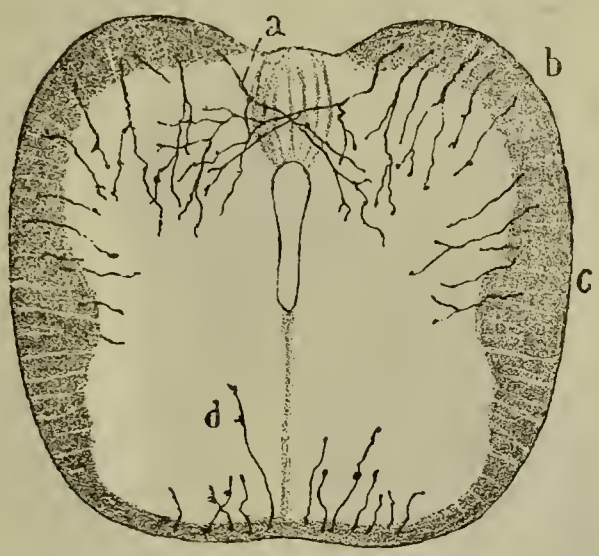

Fig. 365. — Algunas colaterales de la substancia blanca de la médula embrionaria del pollo.—*a*, colaterales comisurales; *b*, colaterales del cordón anterior; *c*, colaterales del cordón lateral; *d*, colaterales sensitivas.

pondiente (figs. 369, y 370, *d*). Las expansiones protoplásmicas son espesas y sumamente ramificadas, pudiéndose distinguir en *antero-externas, posteriores* é *internas*. Las internas son las más interesantes, pues, dirigiéndose á la línea media, penetran en el asta anterior opuesta, después de entrecruzarse con las correspondientes del otro lado (nuestra *comisura protoplásmica,* confirmada por van Gehuchten y Sala) (fig. 370, *b*). Las expansiones antero-externas terminan en los intersticios del cordón antero-lateral, y las posteriores acaban en distintos parajes del asta anterior (figs. 370, *f*, y 371, *a*).

Sobre las neurofibrillas de estas células hemos tratado ya en páginas de la parte general. Aquí mencionaremos solamente un detalle interesante de las conexiones de estos corpúsculos

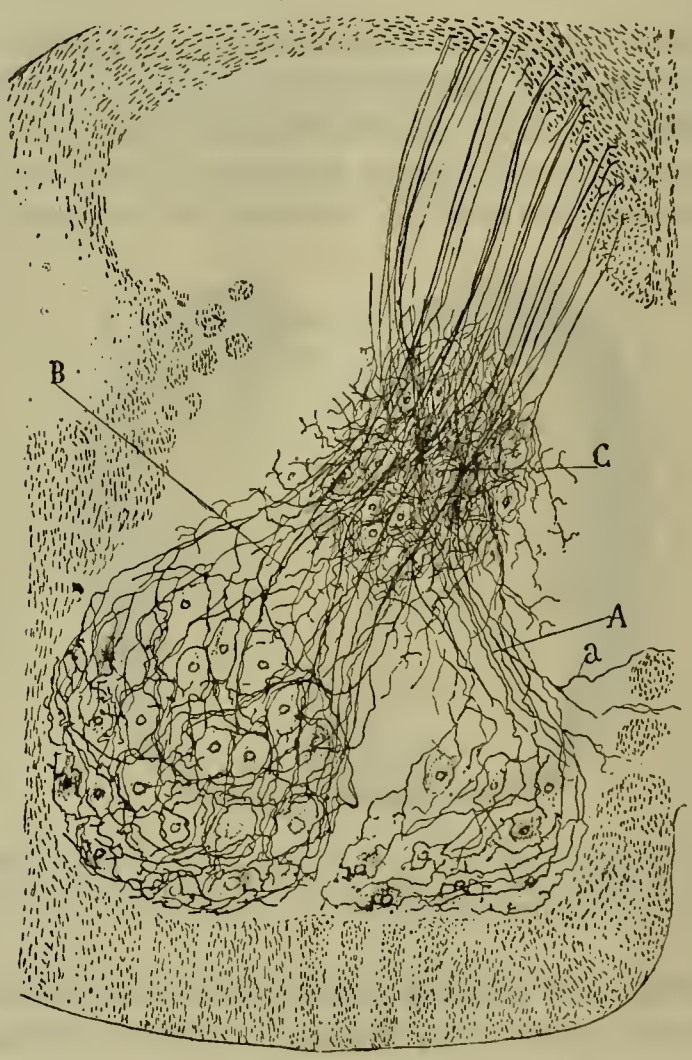

Fig. 366. — Corte de la médula espinal cervical del ratón recién nacido. Colaterales del cordón posterior. — A, colaterales sensitivo-motrices destinadas al grupo interno de células motrices; B, colaterales destinadas al grupo externo; C, plexo terminal en la substancia gris intermediaria.

con las arborizaciones nerviosas. En los animales jóvenes, el plexo pericelular nervioso es rico en fibras y muy denso, acabando cada rama mediante una fina varicosidad apoyada sobre la membrana. Semejante varicosidad alcanza un gran espesor

en el adulto, adquiriendo las proporciones de una maza reticulada (fig. 368, *c, i*) (*botones terminales* de Auerbach). De nuestras recientes investigaciones, confirmadas por van Gehuchten y Held, resulta que existen mazas ó espesamientos nerviosos de trayecto (*a*) y de terminación (*c*).

2.ª *Células comisurales.* — De menor talla y más pobres en expansiones que las anteriores, ya demostró Golgi que yacen en

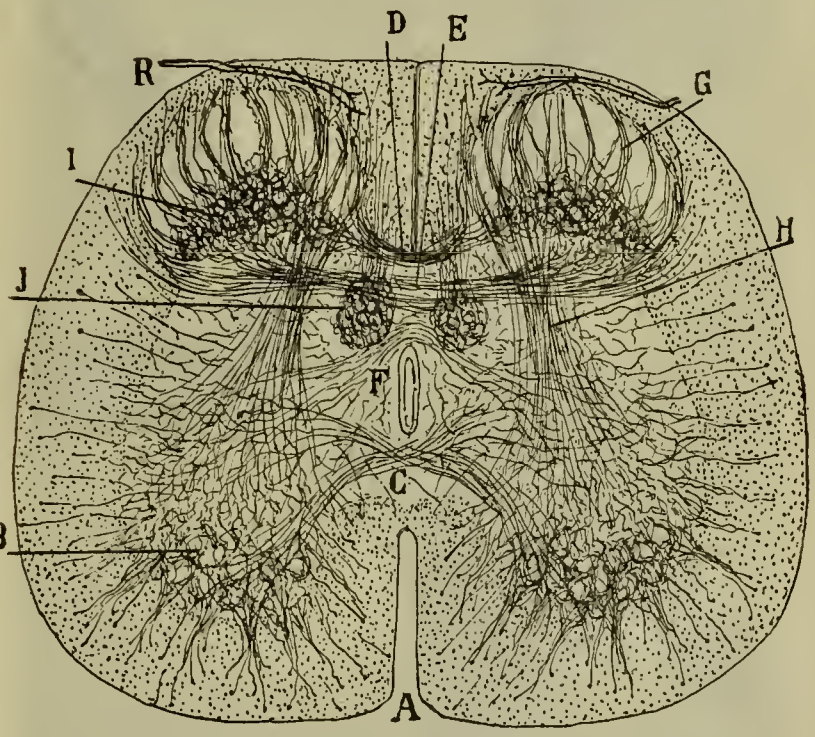

Fig. 367. — Conjunto de las células nacidas de la substancia blanca del embrión de pollo. — A, surco medular anterior; B, plexos nerviosos del asta anterior; C, colaterales cruzadas; D, E, F, fascículos de colaterales de que consta la comisura posterior; R, raíces posteriores; J, columna vesiculosa de Clarke; H, colaterales largas, etc.

todo el espesor de la substancia gris, y que su cilindro-eje, una vez cruzada la línea media anterior (comisura blanca), se continúa con una fibra longitudinal del cordón antero-lateral del otro lado. Nosotros hemos demostrado que no se trata generalmente de una simple continuación, sino de una división en T, es decir, que el cilindro-eje comisural, llegado á la substancia blanca del lado opuesto, se divide en fibra ascendente y descendente (figura 371, *f*).

3.ª *Células de los cordones ó funiculares.*—Así designamos las células, muy numerosas, de talla mediana, esparcidas por todo el espesor de la substancia gris, cuyo cilindro-eje se continúa con una fibra vertical de la substancia blanca de su lado respectivo (fig. 371, *b*).

Fig. 368. — Bulbos y mazas terminales en torno de una célula motriz de la médula espinal. — *a, b,* bulbos recios; *d, e,* bastones finos que semejan anillos; *m,* fibra nerviosa terminal. (Método del nitrato de plata reducido).

En el *asta anterior* casi todos los corpúsculos de esta clase envían el cilindro-eje al cordón anterior y porción anterior del lateral, á esa zona extensa que los neurólogos designan *porción fundamental del cordón antero-lateral.*

Las *células cordonales del asta posterior* remiten el cilindro-eje á un paraje especial del cordón lateral, á *la zona limitante del cordón lateral* de ciertos autores, zona que, por contener ex-

clusivamente cilindros-ejes del asta posterior, nosotros hemos calificado de *manojo del asta posterior* (fig. 372, D).

Las *células cordonales de la substancia de Rolando* son numerosísimas, y se caracterizan por su talla diminuta y por lo enredado y varicoso de sus expansiones protoplásmicas (fig. 372, B).

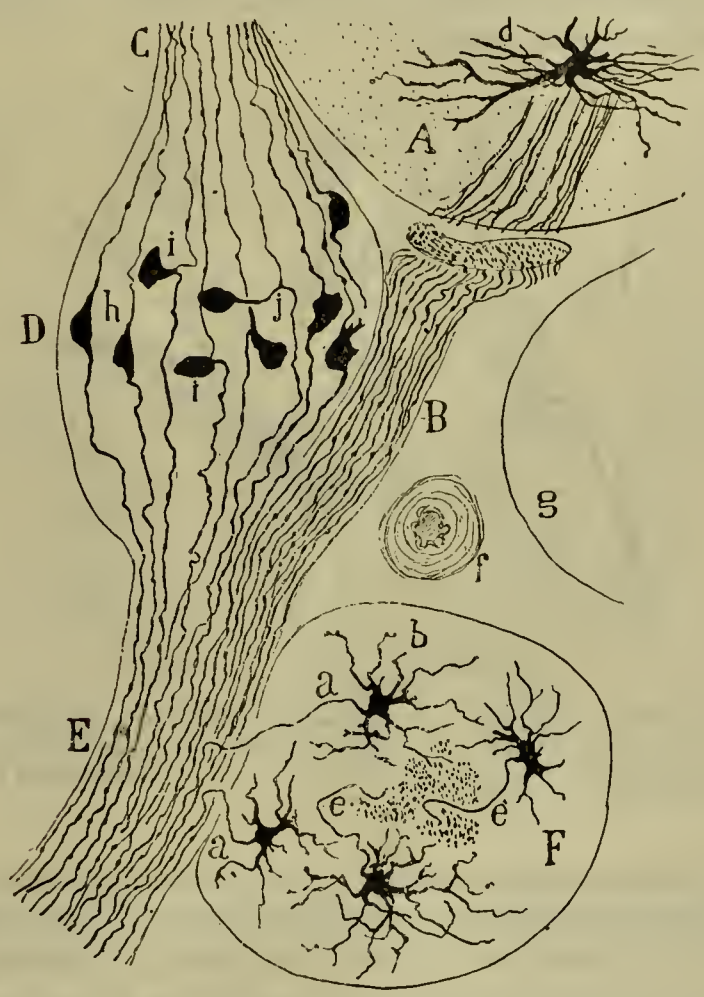

Fig. 369. — Corte de la médula, ganglios raquídeos y gran simpático. — C, raíces posteriores; B, raíces anteriores; *a*, colaterales sensitivas cortas; E, par raquídeo; F, ganglio del gran simpático; D, ganglio sensitivo; *d*, células motrices.

El cilindro-eje de tales corpúsculos es extraordinariamente fino y marcha en diversidad de direcciones: en unas células se continúa con una fibra de la substancia marginal de Lissauer; en otras va al manojo del asta posterior; en algunas ingresa en

el cordón de Burdach. La substancia de Rolando está rodeada de una hilera de gruesas células fusiformes, fronterizas del cordón posterior *(células marginales)*, y cuyas expansiones funcionales se incorporan al *manojo del asta posterior* (fig. 372, *a*). Finalmente, en la región lumbar, una parte de las células de la columna de Clarke dirigen el axon hacia afuera y engendran la vía cerebelosa ascendente.

Fig. 370.—Célula radicular anterior ó motriz del embrión de pollo.—*a*, colateral recurrente nacida del axon; *e*, *d*, dendritas penetrantes en el cordón antero-lateral; *b*, comisura de dendritas; *g*, *f*, expansiones protoplásmicas posteriores; *c*, axon.

4.ª *Células pluricordonales.* — Así calificamos, para evitar perífrasis, ciertos elementos primeramente hallados por nosotros, cuyo cilindro-eje se divide en la substancia gris en dos ó tres fibras constitutivas de otros tantos tubos de diferentes cordones. Así, por ejemplo, se ven elementos de esta especie cuya expansión funcional emite una fibra para el cordón anterior de su lado y otra para el anterior del opuesto; se hallan también otros cuya expansión nerviosa se divide en fibra para el cordón posterior y fibra para el lateral, etc.

Raíces posteriores. — Se sabe que las fibras de las raíces posteriores ó sensitivas proceden de las células monopolares de los

ganglios raquídeos. Ranvier demostró primeramente que la única expansión de dichas células se bifurca, originando: una rama dirigida hacia adentro y continuada con un tubo de la raíz posterior, y otra rama dirigida hacia afuera y prolongada con una fibra sensitiva del par raquídeo correspondiente (figuras 375, G, y 369, *j*).

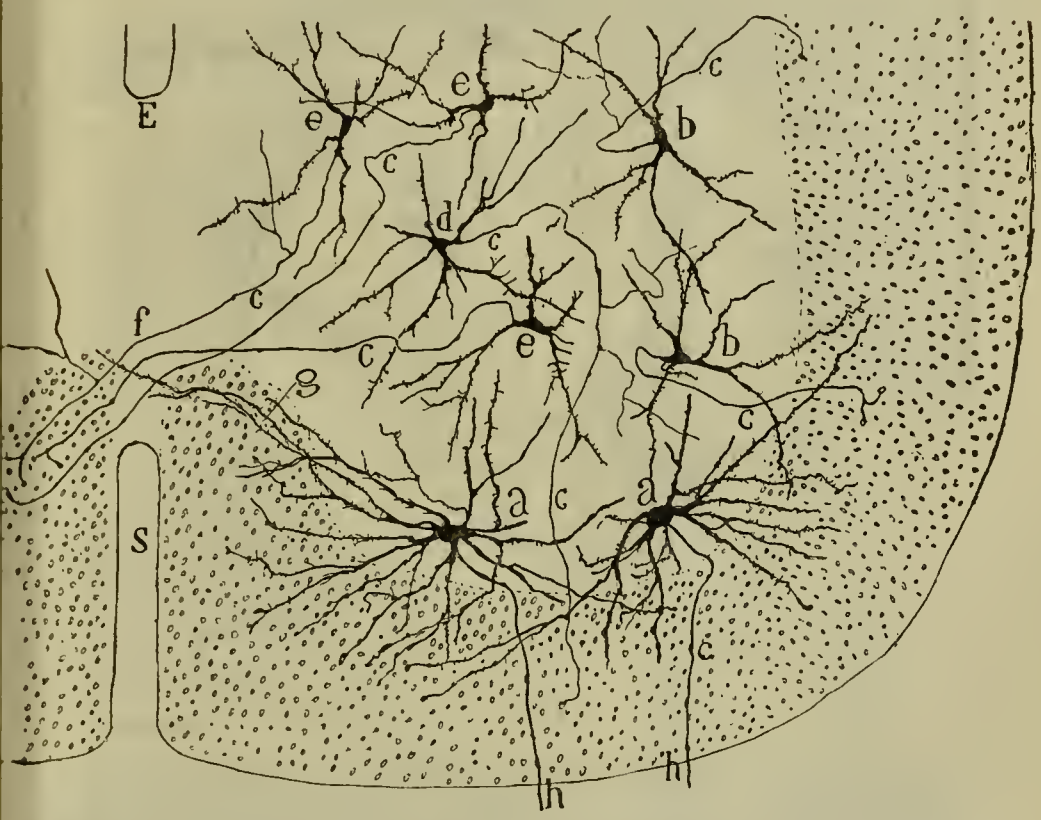

Fig. 371. — Células del asta anterior de la médula espinal del embrión de pollo.—*a*, neuronas motrices; *b*, células del cordón antero-lateral; *c*, axon; *e*, células comisurales; *f*, comisura blanca; *s*, surco anterior de la médula; E, epéndimo; *h*, radiculares motrices.

El comportamiento de las raíces posteriores en el espesor de la médula ha sido uno de los asuntos más difíciles y controvertidos de la anatomía. Afortunadamente, nuestras investigaciones en los embriones de ave y mamífero, confirmadas por Kölliker, van Gehuchten, Retzius, Lenhossék, Cl. Sala, P. Ramón, han resuelto definitivamente lo más esencial del problema, y los antiguos esquemas, fundados en observaciones incompletas ó en prejuicios de escuela, han sido totalmente abandonados.

Las fibras de la raíz posterior abordan el cordón posterior y, llegadas oblicuamente á su interior, se bifurcan en Y, constituyendo una rama ascendente y otra descendente, ambas longitudinales y continuadas con fibras del cordón posterior. Estas ra-

Fig. 372. — Células del asta posterior y substancia de Rolando. Médula espinal del embrión del pollo de diecisiete días. — A, asta posterior; B, substancia de Rolando; C, cordón posterior; E, cordón de Goll; F, fibras de la raíz posterior; D, manojo del asta posterior; *a*, células marginales de la substancia de Rolando; *b*, células de esta substancia cuyo cilindro-eje va al manojo del asta posterior; *d*, célula cuya expansión nerviosa va al cordón lateral en su parte más posterior; *e*, célula cuyo cilindro-eje engendra dos fibras, una para el cordón lateral y otra para el de Burdach; *f*, células cuyo cilindro-eje va á la parte profunda del de Goll. — *Nota:* la letra *c* señala los cilindros-ejes.

mas penetran probablemente en la substancia gris después de un trayecto de muchos centímetros á lo largo de la blanca, y acaban por arborizaciones libres situadas entre los elementos del asta posterior (figs. 363, A, y 373, A).

Tanto del tallo como de las ramas ascendente y descendente brotan en ángulo casi recto colaterales finas, las cuales, pene-

trando en la substancia gris, terminan por elegantes, varicosas y complicadas arborizaciones libres, en contacto con los cuerpos de las células del asta posterior y anterior (fig. 373, I, F).

Una buena parte de las colaterales de las raíces posteriores se reune, como hemos dicho anteriormente, en un haz antero-posterior que, después de cruzar el asta posterior, se esparce en abanico por toda el asta anterior, formando arborizaciones que rodean las células motrices (figura 367, H). Este haz, que nosotros hemos llamado *sensitivo-motor* (*reflejo-motor* de Kölliker), representa un conductor de gran importancia, pues por su mediación se ponen en comunicación las raíces sensitivas con las motoras. La excitación sensitiva es recibida de las colaterales del haz mencionado por los cuerpos y ramas protoplásmicas de las células motrices, que las reflejan por las raíces anteriores hasta los músculos (fig. 375, *a*).

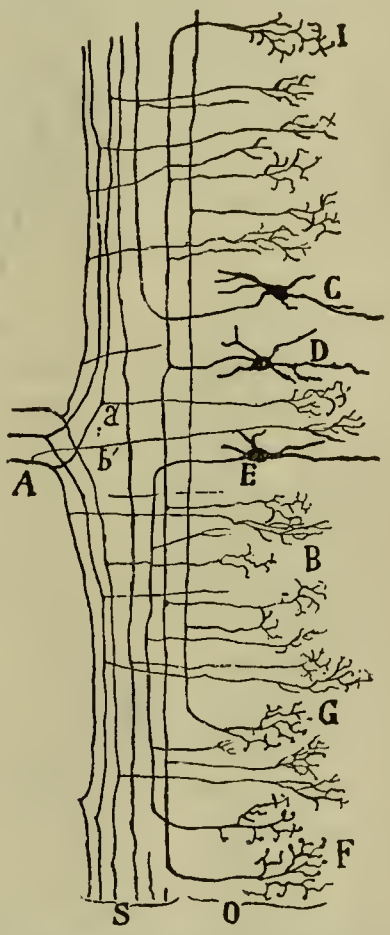

Fig. 373. — Corte longitudinal del cordón posterior de la médula espinal del embrión de pollo. — A, raíces posteriores; B, colaterales del cordón posterior; D, E, neuronas destinadas á la parte inmediata del cordón lateral.

Las demás colaterales del cordón posterior proceden también en su mayor parte de las ramas ascendentes y descendentes de las radiculares sensitivas, y su misión parece ser llevar el movimiento centrípeto á las células de los cordones, es decir, á las de la substancia de Rolando, asta posterior y substancia gris central ó intermedia; y como las expansiones nerviosas de estos corpúsculos, después de formar parte de la substancia blanca, terminan probablemente en pisos distintos de la gris, resulta que, á favor de aquellas colaterales, la conmoción sensi-

tiva podría difundirse sobre un extenso perímetro de la médula espinal. Sospéchase, aunque no se sabe de cierto, que las células

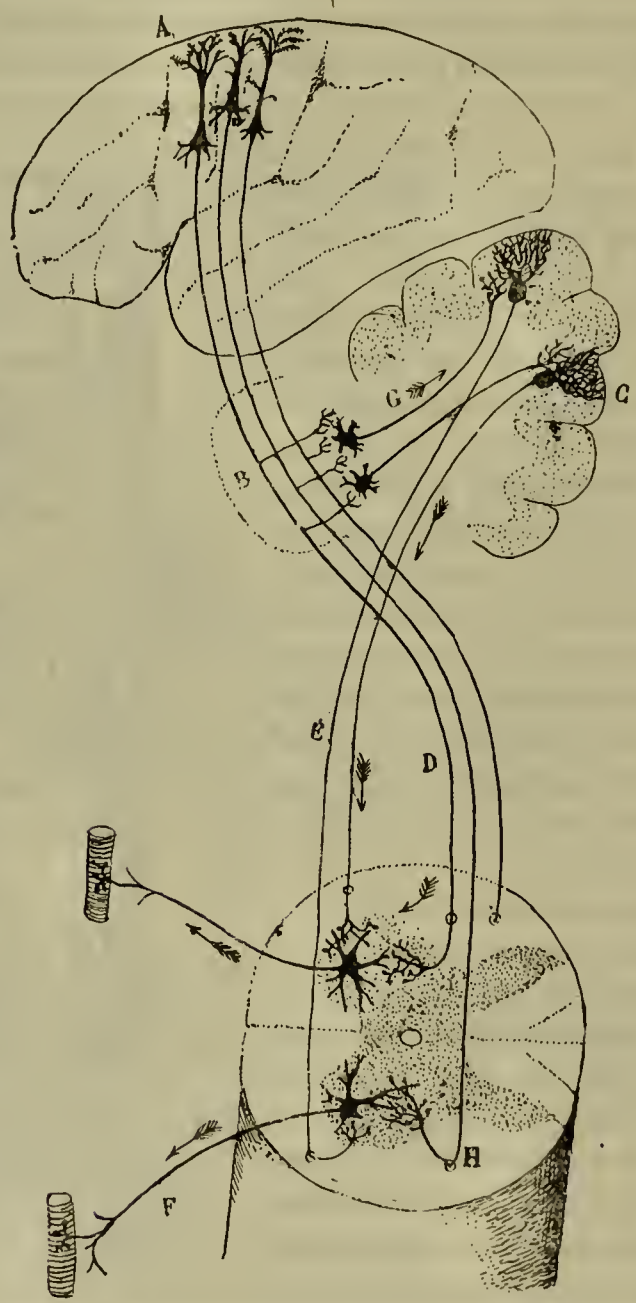

Fig. 374.—Conjunto de la vía motriz del cerebro y médula.—A, zona motriz del cerebro; D, protuberancia de donde nacen colaterales enlazadas con una vía accesoria que pasa por el cerebelo; F, cerebelo con la vía motriz nacida en este órgano; L, vía motriz cerebro-espinal cruzada; M, raices motrices; G, oliva cerebelosa de donde procede la vía motriz cerebelo-espinal ó motriz indirecta.

de los cordones, así como las comisurales, llevan su influencia á los focos motores de la médula, representando, por tanto, una vía sensitiva de segundo orden interpuesta entre cada raíz posterior y todos los focos motrices de la médula espinal.

Sistemas de fibras de la substancia blanca. — Como ya dijimos anteriormente, las fibras de la substancia blanca no tienen el mismo origen ni igual terminación.

Entre ellas hay que distinguir las *vías cortas* y las *vías largas*. Las *vías cortas* están constituídas por los cilindros-ejes de las células comisurales y de los cordones, y corresponden á la región fundamental del cordón antero-lateral, al manojo comisural del cordón anterior, al manojo del asta posterior, á la zona maginal de Lissauer, etc.

Las *vías largas* son: 1.°, la *vía piramidal* directa y cruzada, cuyas fibras proceden de las pirámides de la zona motriz del cerebro, bajan á lo largo del bulbo y médula y se terminan, á favor de arborizaciones libres, en todos los focos motores (figuras 374, A, B, D, H, y 357, J, I) del bulbo y médula espinal; 2.°, la *vía cerebelosa ascendente,* cuyas fibras parten de las células de la columna de Clarke, y de otros puntos de la substancia gris, y suben hasta el vermis del cerebelo (fig. 357, C), donde no se sabe cómo terminan; 3.°, las *vías sensitivas de los manojos de Goll y de Burdach,* las cuales están constituídas por las ramas ascendente y descendente de las radiculares posteriores; estas ramas, después de un trayecto más ó menos largo, ingresan en la substancia gris del asta posterior. Créese que las fibras ascendentes sensitivas más largas se prolongan por arriba hasta dos núcleos del bulbo, los *focos del cordón de Goll y de Burdach,* donde se resuelven en arborizaciones libres: de tales focos surge una nueva corriente sensitiva (*lemnisco interno*) que desagua en el cerebro en toda la región psico-motriz.

En la figura 374, A, B, D, reproducimos el enlace que existe entre el cerebro y la médula por medio de la vía piramidal ó directa y la vía motriz indirecta ó cortico-ponto-cerebelo-espinal (E, F, G, J); al paso que en la figura 375 presentamos esquemáticamente la unión que se establece mediante colaterales entre las raíces sensitivas y las células motrices.

Vías reflejas. — En las figuras 375 y 376 mostramos la marcha de las corrientes reflejas, á través de la médula, desde la piel hasta los músculos. En la figura 375, *a* aparece el itinerario de la corriente cuando ésta pasa directamente desde las colaterales largas de las raíces posteriores hasta las neuronas motrices. Nótese que en la propagación del impulso reflejo intervienen solamente dos neuronas.

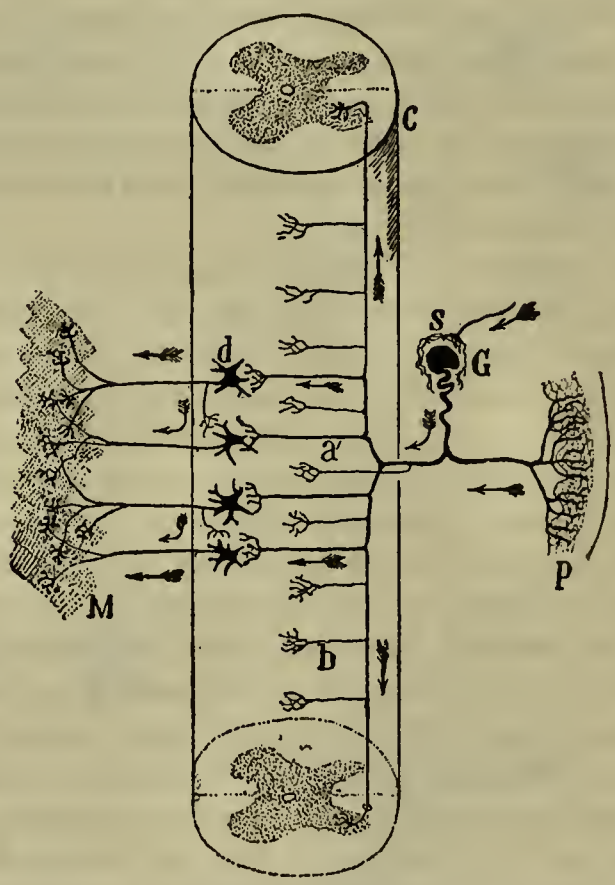

Fig. 375. — Marcha de las corrientes en los reflejos tendinosos. Figura esquemática. — *a*, colaterales largas; P, piel; G, célula sensitiva ó ganglionar; *d*, célula motriz; M, músculos.

En la figura 376 reproducimos la marcha de las corrientes, cuando interviene una tercera neurona intercalar, la célula de asociación ó funicular homo ú oposito-lateral. Mediante las colaterales cortas de las raíces sensitivas, el impulso aferente aborda las células funiculares (C), desde las cuales, y á favor de sus colaterales nerviosas, descarga al fin en B, ó sea en las neuronas

motrices. Esta vía, más larga y extensa, entra en juego en los reflejos complicados y de largo radio de acción muscular, en tanto que la vía corta antes expuesta ó formada de dos neuronas es, sobre todo, preferida para los reflejos monomusculares ó tendinosos.

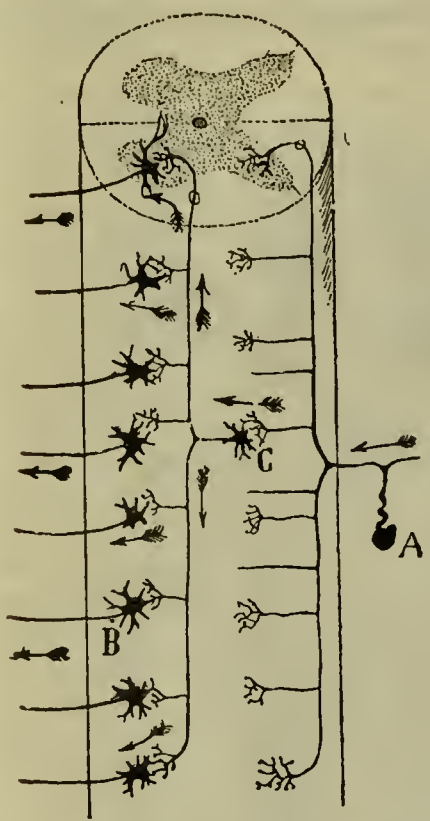

Fig. 376. — Esquema de la marcha de las corrientes en la médula espinal.—A, célula sensitiva; B, neurona motriz; C, célula funicular en relación con las colaterales sensitivas cortas.

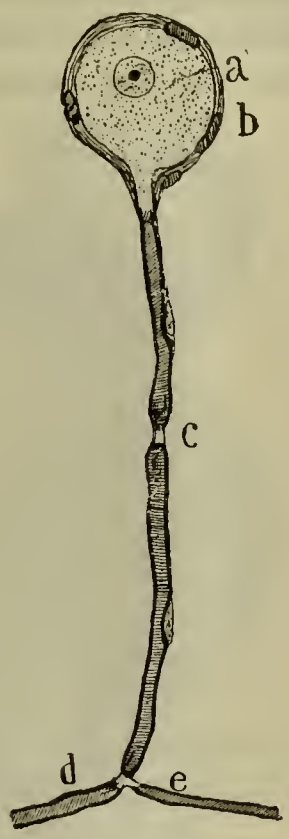

Fig. 377.—Célula monopolar de un ganglio raquídeo de conejo joven. Disociación en presencia del ácido ósmico.— *a*, cápsula de la célula; *c*, estrangulación de la fibra; *d*, rama gruesa ó periférica; *e*, rama fina ó central.

Ganglios espinales ó cerebro-raquídeos. — Hállanse en el trayecto de las raíces posteriores ó sensitivas de los nervios raquídeos, y en todos los pares craneales sensitivos. A esta variedad pertenecen, por tanto, el ganglio de Gaserio, el de Andersch, el plexiforme y el yugular del pneumogástrico, el geniculado del facial, etc.

Cuando se practica un corte en un ganglio raquídeo, se advierten dos zonas: una cortical, grisácea y rica en células nerviosas; otra central, constituída esencialmente por tubos medulares. Esta zona, casi desprovista de células en los vertebrados inferiores, hállase en los mamíferos constituída por islotes neuronales, separados por haces de substancia blanca. En torno del ganglio se halla una cubierta conjuntiva, especie de cápsula continuada con el neurilema.

Fig. 378.—Trozo de un ganglio sensitivo, coloreado por el azul de metileno. A, células sensitivas; B, haces de fibras nerviosas.

Las *células nerviosas* son voluminosas (de 20 á 50 milésimas), redondeadas ó ligeramente poliédricas. No todas afectan igual espesor, pudiéndose distinguir en grandes (de 50 á 60 μ) y pequeñas (de 20 á 26 μ). Como luego veremos, estos diminutos elementos poseen morfología algo diversa de los grandes. En ellas

se encuentra una cubierta ó cápsula protectriz de naturaleza fibrosa, revestida interiormente por un endotelio; un protoplasma abundante fuertemente granuloso y manchado, en uno de sus lados, por un acúmulo de granos melánicos y un núcleo esferoidal, voluminoso, provisto de un nucleolo grueso y fácilmente colorable por el carmín y anilinas básicas (fig. 377). El método de Nissl permite reconocer en el protoplasma un gran número de grumos basiófilos más finos y apretados que los correspondientes de las células motrices. El aspecto y finura de estos grumos varía en las diversas células gangliónicas.

Fig. 379. — Corpúsculos satélites ó endocapsulares de los ganglios raquídeos del gato.

Además de la cubierta fibrosa guarnecida de células endoteliales, existen en torno del protoplasma en un espacio plasmático subcapsular, ciertos elementos primeramente señalados por nosotros con ayuda del método de Ehrlich y de Golgi y comprobados después por numerosos autores (Nageotte, Marinesco, Lenhossék, Dogiel, etc.). Tales corpúsculos, que designamos *células satélites,* son pequeños, fusiformes ó estrellados y provistos de expansiones, ya cortas y apenas ramificadas, ya largas y curvilíneas íntimamente aplicadas (figura 379) al contorno de la célula sensitiva. En los corpúsculos ordinarios las células satélites son poco numerosas; mas, según veremos más adelante, en las neuronas fenestradas, desgarradas y en vías de regeneración constituyen pléyades macizas en torno al protoplasma (fig. 384).

Las células sensitivas son monopolares, como reconocieron Ranvier, Lenhossék, Retzius, etc., y su expansión única y espesa, tras un curso variable dentro del ganglio, se bifurca, engendrando: una *rama fina* destinada á la médula espinal, en la cual penetra constituyendo la raíz posterior ó sensitiva de los nervios raquídeos; otra *rama gruesa* que se dirige á la periferia,

ingresando en el par raquídeo correspondiente y ramificándose en la piel ó acabando en un aparato sensitivo terminal (corpúsculos de Pacini, Meissner, etc.). Tanto el tallo de origen como las ramas de bifurcación están envueltas por una vaina de mielina. La división dicotómica se verifica al nivel de una estrangulación (figs. 377, *e*, y 378, A).

Las investigaciones de Dogiel, confirmadas por nosotros y por Olóriz, prueban que la expansión única traza, á su salida de la célula y por debajo de la cápsula, un glomérulo ú ovillo de vueltas complicadas que falta en los embriones y animales recién

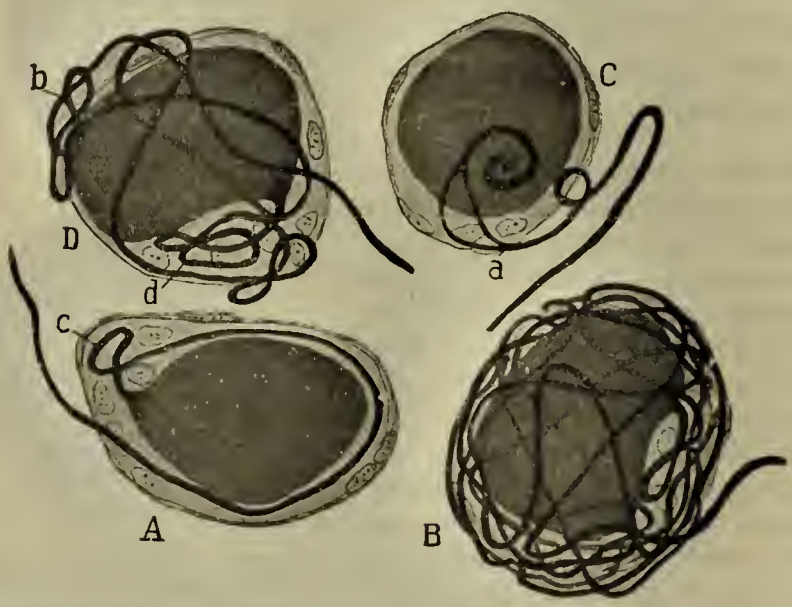

Fig. 380. — Células sensitivas del hombre. Método del nitrato de plata reducido. Diversos tipos de corpúsculos glomerulares.

nacidos. Este glomérulo, que carece de vaina medular, está destinado á ponerse en contacto con arborizaciones nerviosas (figura 380). La complicación del glomérulo varía mucho dentro de un mismo ganglio y en las diversas especies animales. En el hombre consta unas veces de una simple asa ó revuelta inicial (figura 380, A); mientras que en ciertas células adopta la forma de un nido complicado que rodea enteramente el soma por debajo de la cápsula (figs. 380, B, y 385, A). Cerca de la emergencia del axon, el protoplasma muestra una foseta ó superficie plana en relación con células satélites (fig. 380, D).

Es difícil comprender la utilidad de la mencionada disposición monopolar de los corpúsculos ganglionares sensitivos. Si, como parece probable, suponemos que la corriente sensitiva aportada de la periferia por la expansión externa no necesita ir al cuerpo celular, sino que deriva inmediatamente por la otra prolongación para ingresar en la médula espinal, la disposición monopo-

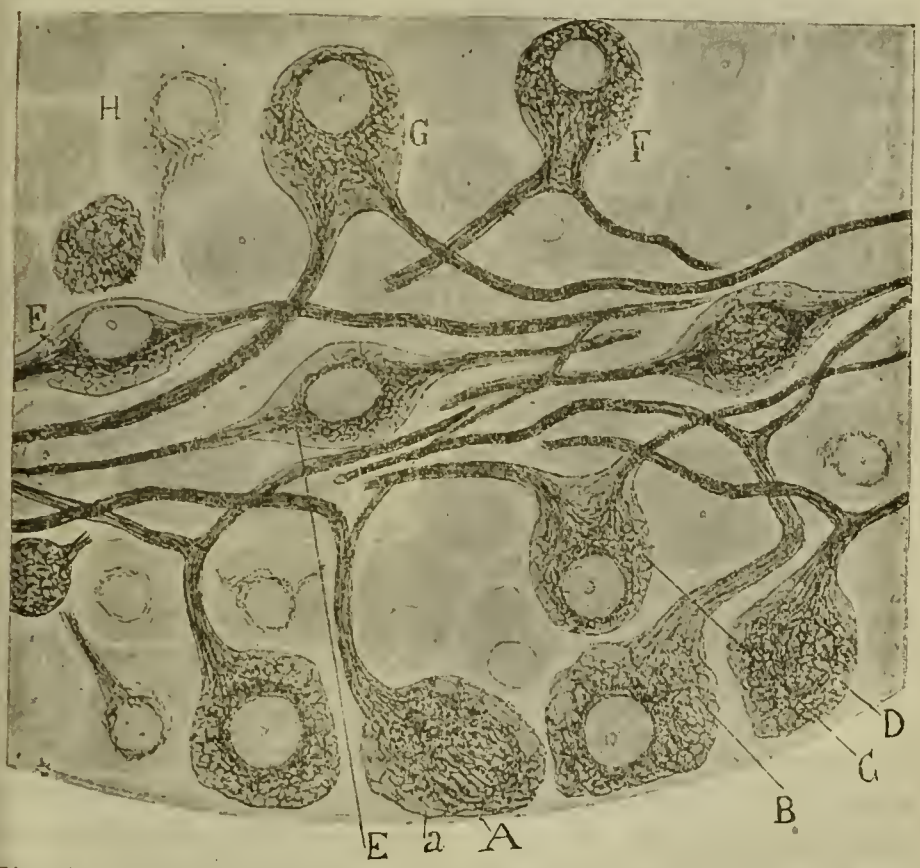

Fig. 381. — Ganglio raquídeo de un embrión de pollo de catorce días. — A, neuronas monopolares; C, neuronas en fase de tránsito de la bipolaridad á la monopolaridad; E, células bipolares.

lar tendría por objeto establecer en el centro del ganglio un camino más directo para la expansión centrípeta. Para comprender esto hay que recordar que en los peces, en los cuales los corpúsculos sensitivos son bipolares, las dos expansiones trazan numerosas flexuosidades dentro del ganglio, á fin de acomodarse á las curvas de las células esféricas esparcidas por todo él. La huída del soma á la periferia y la creación de un largo pedículo

á fin de permitir el establecimiento de las dos ramas en el centro del ganglio, es decir, en una región exenta de cuerpos celulares, suprime las flexuosidades del conductor sensitivo y acorta, por tanto, la distancia que en su propagación á la médula debe recorrer la onda sensitiva.

Como veremos más adelante, la disposición monopolar no es originaria, modelándose en las aves y mamíferos tardíamente. La forma primitiva es la bipolar (fig. 381, E), morfología que todavía se mantiene durante toda la vida en los invertebrados y

Fig. 382. — Célula ganglionar humana, provista de apéndices protoplásmicos.—*a*, axon.

Fig. 383. — Célula con expansiones filiformes terminadas por bolas (mujer de veinticinco años). Ganglio del vago.

en algunas especies de peces. En la figura 381 presentamos el ganglio de un embrión de pollo de catorce días, en el cual muchas neuronas sensitivas centrales afectan todavía configuración bipolar, mientras que algunas de las periféricas se hacen progresivamente monopolares por sucesiva emigración del punto de arranque de ambas expansiones polares (fig. 381, G, C).

Examinando la fina estructura de las células gangliónicas con los métodos de Nissl y del nitrato de plata, es posible discernir las siguientes partes: *a)* núcleo voluminoso, en cuyo interior aparece un grueso conglomerado de esférulas basiófilas (nucleolo principal) y algunos granos más pequeños diseminados (cuerpos accesorios y nucleolos secundarios); *b)* granulaciones basiófilas de Nissl, finas, abundantes y diseminadas por todo el protoplasma, salvo el arranque

de la expansión, en donde suelen faltar; *c)* en fin, una red complejísima de neurofibrillas, descritas primeramente por Bethe, y confirmadas y mejor presentadas por Tello y nosotros, gracias á la superioridad del proceder de impregnación argéntica. Esta complicada red aparece en la figura 381, A. También Tello (1) la ha observado bien, estudiando las neurofibrillas de los ganglios raquídeos de un lagarto en invernación, durante cuyo estado las hebras protoplásmicas alcanzan desusado grosor.

El tipo gangliónico monopolar que acabamos de describir es el más abundante, pero hállanse otros tipos corpusculares que recientemente hemos logrado impregnar con el método del nitrato de plata reducido, tanto en el hombre como en el perro y caballo. Los principales son:

1.° Neuronas semejantes á las glomerulares en tamaño, pero desprovistas de glomérulo. Sus corpúsculos satélites son poco numerosos. El axon posee cubierta medular.

2.° Neuronas pequeñas también desprovistas de glomérulo. Tales elementos, ya reconocidos hace tiempo en los preparados del azul de metileno, son más abundantes que los precedentes. Caracterízanse por la finura de su armazón neurofibrillar, delgadez de su cápsula y ausencia de células satélites. El axon, desprovisto de mielina, se bifurca también en rama interna y externa.

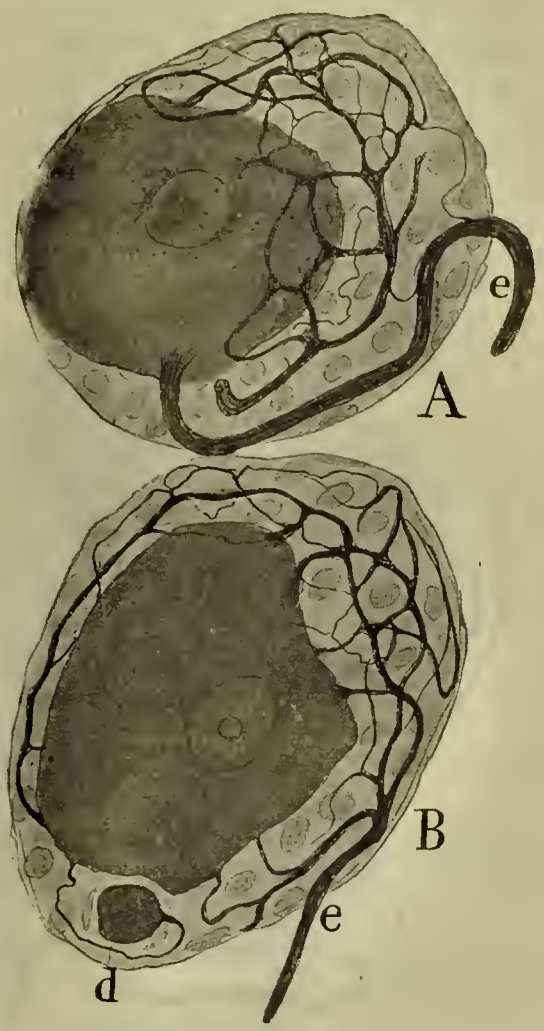

Fig. 384.—Células de los ganglios raquídeos del carnero, las cuales presentan un sistema fenestrado.—*e*, axon.

(1) *F. Tello:* Las neurofibrillas de los vertebrados inferiores. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, cuad. 2.° y 3.°, tomo III, 1914.

3.º Corpúsculos multipolares que recuerdan los descritos por Disse, Spirlas, Lenhossék y nosotros, es decir, provistos de dendritas cortas y recias, ensanchadas en su punta y acabadas por debajo de la cápsula; poseen además tales elementos un axon glomerulado co-

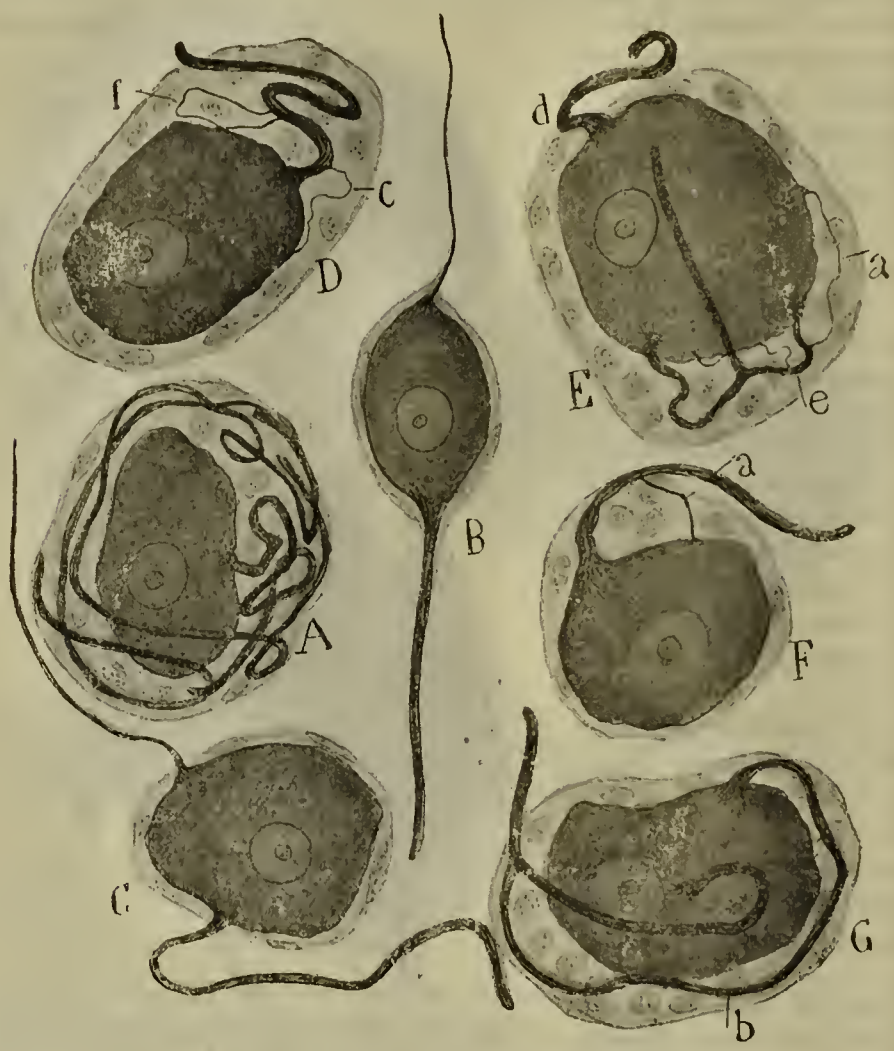

Fig. 385.—Células sensitivas del plexo gangliforme del pneumogástrico del hombre adulto.—A, célula glomerular; B, célula bipolar; D, E, neuronas con asas fibrilares en la periferia protoplásmica.

mún. Estas células singulares, raras en los ganglios raquídeos, abundan algo en los craneales, singularmente en el ganglio plexiforme del nervio vago, y deben considerarse como la primera fase de los tipos provistos de largas dendritas acabadas en maza (fig. 382, *b*).

4.º Corpúsculo multipolar provisto de finísimas dendritas nacidas ya del contorno del soma, ya de la porción inicial del axon, y las cua-

les, espesándose sucesivamente, acaban á favor de colosales esferas rodeadas de un sistema concéntrico de cápsulas nucleadas. A veces, dichos apéndices se bifurcan, generando dos ó más globos finales (figura 387), y no es raro ver fibras terminadas en un rosario de esferas ó abultamientos sumamente próximos.

Entre las variedades de este singular tipo celular, que recuerda algo el descrito hace varios años por Huber en una rana americana, se cuentan estas dos: células cuyas esferas terminales residen y se terminan por debajo de la cápsula del corpúsculo de origen (figura 383, *a*), conexionándose con los nidos nerviosos pericelulares de Cajal y Dogiel; y células cuyas finísimas dendritas (nacidas ya en la célula, ya en el axon) envían sus globos terminales á los espacios

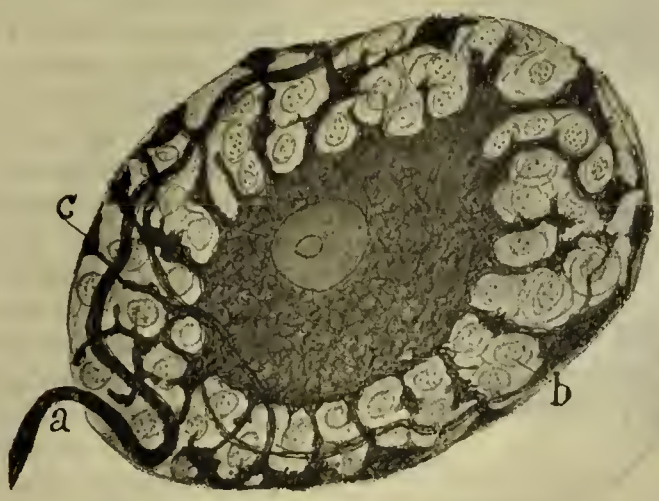

Fig. 386. — Célula sensitiva de un anciano. La porción periférica del protoplasma ha sido invadida por las células satélites. — *a*, axon; *b*, células satélites; *c*, apéndices celulares.

intercelulares, en ocasiones á gran distancia del corpúsculo originario. Tan singulares elementos son comunes en el hombre, asno y caballo, menos frecuentes en el perro y gato.

Nageotte (1907), que ha comprobado su existencia en los ganglios del hombre enfermo de tabes, considera tales elementos como neuronas sensitivas en vías de regeneración, á consecuencia de la destrucción ó grave deterioro del axon, por causas patológicas. Según dicho autor, ya en estado normal muchos axones se destruyen y la neurona se apresta á restaurar la expansión nerviosa, ya mediante ramas partidas del soma, ya á favor de colaterales brotadas del axon. Esto explicaría el que nosotros hayamos descubierto tales corpúsculos en el hombre y animales normales. Además, el referido proceso destructivo y regenerativo del axon se exaltaría durante ciertas enfermeda-

des, como la tabes, apareciendo en los ganglios cantidades enormes de fibras nerviosas neoformadas. Nageotte da al mencionado proceso el nombre de *regeneración colateral.*

5.° Células fenestradas, ó sea perforadas en la región de origen del axon por dos, tres ó más ventanas, que rellenan elementos satélites intracapsulares (fig. 384).

Estas interesantes células, señaladas hace tiempo por H. Daae en los ganglios del caballo, olvidadas durante muchos años, han sido redescubiertas por nosotros (1905) en numerosos vertebrados, gracias al método del nitrato de plata reducido, que las colorea espléndidamente. El aspecto de los fenestramientos varía mucho en las diversas especies animales. Así, en el carnero, el protoplasma fenestrado afecta la disposición de una delicada malla cuyos huecos aparecen llenos de células satélites. Existen cordones de gran finura y algunos que parecen construídos por una sola neurofibrilla. Este sistema fenestrado yace unas veces en la región de origen del axon, con que éste parece resultar de la convergencia de varias arcadas ó cordones protoplásmicos; mas en muchas ocasiones los fenestramientos residen en regiones corticales de la célula que son completamente extrañas al axon (figura 384, A). En el perro los fenestramientos son sobrios, como son recios y cortos los cordones de unión. Todavía más sencillos suelen mostrarse en el hombre, donde afectan la forma de amplios ojales ó de una sola ventana encuadrada por una arcada ó sea de gran longitud (fig. 385, D, E).

Fig. 387. — Nido nervioso pericelular de una célula sensitiva del plexo gangliforme del vago en el hombre. *a*, axon y su bifurcación; *d*, fibras nerviosas aferentes; *b*, nido nervioso; *c*, dendritas de forma arrosariada.

En fin, Levi (1908), aplicando nuestro método á los peces, ha observado que en éstos los fenestramientos, á veces complicadísimos y dispuestos en red delicadísima, yacen exclusivamente en las células voluminosas. De acuerdo con la opinión de este autor, nosotros pensamos que las susodichas ventanas abiertas en el protoplasma neuronal y rellenas de corpúsculos satélites, tienden á facilitar los cam-

bios nutritivos. Por esta razón no suelen presentar fenestramientos los corpúsculos sensitivos de pequeña talla.

Citemos aún á Dogiel, que en extensa monografía acerca de los ganglios del caballo (1910), no sólo confirma las modalidades descritas por nosotros, sino que añade algunas variedades más. Entre ellas merece citarse un tipo neuronal, cuyo axon, después de resolverse en sistema de asas anastomóticas (axon fenestrado), vuelve á reconstruirse, recobrando su individualidad.

6.° En el hombre anciano, y en ciertos estados patológicos, habita otra categoría celular, que hemos designado *célula desgarrada,* por exhibir un contorno desgarrado y festoneado, y lleno de hoyos y expansiones cortas insinuadas entre los corpúsculos capsulares (figura 386). El axon parece normal. Este tipo celular parece patológico.

Fig. 388. — Arborizaciones nerviosas pericelulares de las células sensitivas del gato. Método de Ehrlich. — C, arborización casi exclusivamente pericelular; D, arborización pericelular y periglomerular; *g*, fibra aferente; *d*, rama terminal.

Arborizaciones nerviosas pericelulares. — Por debajo de la cápsula endotelial y conectiva existen, íntimamente aplicadas al protoplasma, unas ramificaciones nerviosas varicosas, finas, dispuestas en cesta pericelular, las cuales fueron señaladas primeramente por Ehrlich en la rana, por nosotros en la rata, y posteriormente por Dogiel en el gato (fig. 388). Algunas de dichas arborizaciones parecen provenir de fibras del gran simpático, á cuyo parecer se inclina también Dogiel y Levy; de otras se ignora el origen.

Además de las citadas cestas pericelulares simpáticas, exis-

tirían otras procedentes de las ramificaciones intraganglionares de ciertos corpúsculos monopolares, pero esta aserción de Dogiel no ha sido todavía confirmada. Es posible que las ramas y plexos pericelulares nacidos de este pretendido tipo nervioso, sean efecto de procesos regenerativos patológicos.

Las cestas pericelulares han sido observadas por nosotros en los ganglios sensitivos humanos, donde son particularmente abundantes, sobre todo en los de los nervios sensitivos craneales. Llamamos la atención, desde luego, sobre el hecho de que no todas las células las contienen, sino un corto número de elementos correspondientes, por lo común, al tipo glomerular. Estas arborizaciones residen de preferencia en el espesor de la cápsula, por fuera de los corpúsculos satélites (fig. 387, *d, b*).

Cuando se comparan entre sí las citadas arborizaciones pericelulares, se advierte que, por la manera de disponerse, se clasifican en tres tipos: 1.° Tipo de ovillo pericelular en que una ó varias fibras, que conservan su individualidad, dan vueltas y revueltas en torno del soma, generando un ovillo complicado (fig. 387). A veces se observan bifurcaciones. 2.° Tipo arborizado. Las fibras aferentes se ramifican en torno de la célula, produciendo ramas varicosas terminadas por intumescencias finales (fig. 388, *d*). 3.° Tipo periglomerular. Las fibras aferentes, después de rodear el axon en espiral, continúan trazando vueltas y revueltas en torno del glomérulo, produciendo un plexo especial en contacto con esta porción del axon. En muchos casos, después de este ovillo periglomerular, las fibras avanzan hacia el soma y forman una ramificación perisomática. Esta última modalidad de nido nervioso se le reconoce con el nombre de *tipo mixto* (fig. 388, C).

La significación de estos diversos nidos nerviosos no está bien dilucidada. Nageotte, en vista de su frecuencia en los casos patológicos, expone la idea de que representan disposiciones aberrantes de fibras en vías de crecimiento. Que su presentación obedece á menudo á condiciones patológicas lo persuaden, entre otros hechos, los siguientes: 1.°, como Nageotte, Marinesco, Rossi, Dustin, nosotros, etcétera, hemos observado, los citados nidos pericelulares son abundantísimos en los ganglios ingertados ó transplantados; 2.°, los estudios experimentales de Marinesco, nosotros y otros autores, enseñan que basta oprimir mecánicamente un ganglio raquídeo, distender el par nervioso correspondiente ó causar en ambos la menor herida, para que inmediatamente sea el ganglio inundado por retoños que, nacidos en los axones lesionados ó en las mismas neuronas, marchan hacia los cuerpos de las células sensitivas, trazando revueltas com-

plicadas en torno ó por fuera de la cápsula; 3.°, Legendre y Minot (1912) y Narinesco (1913), han provocado la creación de nidos en ganglios cultivados *ex vitro;* 4.°, en fin, Marinesco, Schäffer, Levi, O. Rossi, Bielschowsky, Pacheco, Achúcarro, etc., hacen notar que los pelotones pericelulares preséntanse en gran cantidad, no sólo en la tabes, como descubrió Nageotte, sino en gran número de trastornos de los centros nerviosos del hombre.

En suma; todo conspira hacia la idea de que los mencionados nidos constituyen producto morboso, fácilmente reproductible por la vía experimental. Falta, empero, esclarecer, por qué tan curiosa disposición encuéntrase, de cuando en cuando y en proporciones variables, en los ganglios de animales evidentemente normales.

CAPÍTULO XXV

ESTRUCTURA DEL CEREBELO

Cuando se corta transversalmente y se examina una laminilla cerebelosa, aparecen tres capas superpuestas: la primera, ó superficial, es de substancia grisácea y se llama *capa molecular;* la segunda, gris, amarillenta ó rojiza, se denomina *de los granos* ó granulosa; la tercera ó profunda, situada en el eje de cada laminilla, se llama *zona de substancia blanca* (fig. 392).

Lo que se conocía de la construcción de estas capas antes de la aplicación de los métodos impregnadores, era muy poca cosa. En la *zona molecular* se describía una capa granugienta sembrada de pequeños corpúsculos nerviosos de forma indeterminada. En la zona *de los granos* se señalaba la existencia de unos corpúsculos pequeños, abundantísimos, mas sin poder definir su naturaleza. Y entre ambas zonas se sabía que existían unas células grandes, ovoideas, cuyas expansiones protoplásmicas se perdían, ignorándose cómo, en la capa molecular, y cuyo cilindro-eje descendía hasta la substancia blanca. Golgi añadió importantes datos con su valioso método, aunque sin resolver el problema de las conexiones intercelulares ni el de la marcha y terminación de muchas fibras nerviosas. En tal estado publicamos nosotros nuestros trabajos (1888 á 1890), de los cuales vamos á extractar lo más interesante.

Zona molecular. — Contiene dos especies celulares: las *células de Purkinje* y las *pequeñas estrelladas*.

Células de Purkinje.—Aparecen en las buenas preparaciones como Golgi las ha descrito (fig. 390). El soma es alargado, abundante en protoplasma y está provisto de finos grumos de Nissl (fig. 389, C) y de un aparato endocelular de Golgi primeramente descrito por este autor y confirmado por nosotros (fig. 396, A).

Este retículo es espeso, exhibe trabéculos varicosos, da la vuelta al núcleo y se prolonga más ó menos á lo largo de la expansión radial. De lo alto del cuerpo parten uno ó varios tallos que, penetrando en la zona molecular, se dilatan en una riquísima ar-

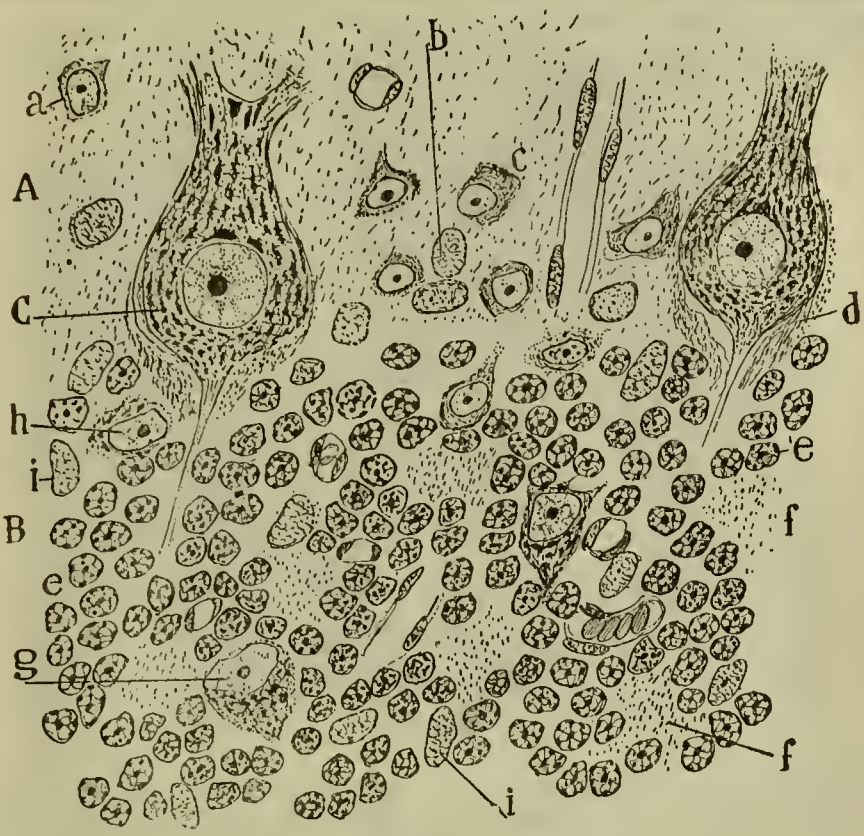

Fig. 389. — Trozo de un corte de la corteza cerebelosa del hombre adulto. Método de Nissl. Obj. 1,30 apocr. Zeis. — A, porción inferior de la capa plexiforme; B, capa de los granos; C, cuerpo de las células de Purkinje; *a*, célula estrellada de la capa plexiforme; *b*, núcleos de las células epiteliales; *c*, otra célula nerviosa estrellada con cromatina marginal; *d*, masa fibrilar que corresponde á las cestas de Purkinje; *e*, núcleos de los granos; *f*, islotes granulosos ó cerebelosos; *g*, *h*, células de Golgi de la capa de los granos; *i*, núcleos de las células de neuroglia.

borización aplanada, prolongada hasta la misma superficie del cerebelo. Todas las ramillas de este ramaje terminan libremente y en su curso presentan perpendicularmente insertas infinidad de espinas colaterales. Lo más interesante de la disposición de las arborizaciones de estos corpúsculos es el aplanamiento y su perfecta orientación transversal; por manera que si la laminilla

cerebelosa es seccionada á lo largo, todas las células de Purkinje se presentan de perfil. Por lo demás, semejante aplanamiento transversal fué ya indicado por Henle y Obersteiner (fig. 392, *a*).

El cilindro-eje de las células de Purkinje adquiere luego vaina de mielina y desciende hasta la substancia blanca; en su

Fig. 390.—Células de Purkinje de cerebelo humano. Método de Golgi. *a*, cilindro-eje; *b*, colateral de éste.

trayecto y al nivel de las dos ó tres estrangulaciones primeras, emite algunas colaterales ascendentes que, ramificándose en la parte inferior de la capa molecular, constituyen una arborización en gran parte longitudinal (fig. 390, *b*). Los estudios que acerca de la terminación de estas colaterales recurrentes hemos

emprendido (1907) con ayuda del nitrato de plata reducido, nos han conducido á descubrir que, después de un curso longitudinal más ó menos extenso por el cuarto inferior de la capa molecular, dichas fibras cambian de dirección, aplícanse á los gruesos tallos protoplásmicos de las células de Purkinje, y se terminan sobre ellos á través de un fino botón terminal. Dentro de este botón, según aparece en la figura 391, *a*, se contiene un

Fig. 391. — Célula de Purkinje del cerebelo del perro. — *a* y *b*, botones terminales de las últimas ramificaciones de las colaterales recurrentes. (Método del nitrato de plata reducido).

anillo neurofibrillar. Mediante estas colaterales recurrentes, el impulso recibido por una célula de Purkinje puede propagarse á otros elementos congéneres yacentes á más ó menos distancia dentro de la misma laminilla.

Células estrelladas pequeñas. — Son corpúsculos estrellados, transversalmente aplanados, de pequeño volumen, cuya naturaleza nerviosa fué ya reconocida por Golgi, pues logró descubrir el cilindro-eje, así como determinar su curso horizontal y sus colaterales ascendentes y descendentes. Mas la terminación de estas expansiones nerviosas no pudo ser demostrada por Golgi,

que admitía, á fin de explicarse la comunicación entre las células, la existencia de una red nerviosa intersticial.

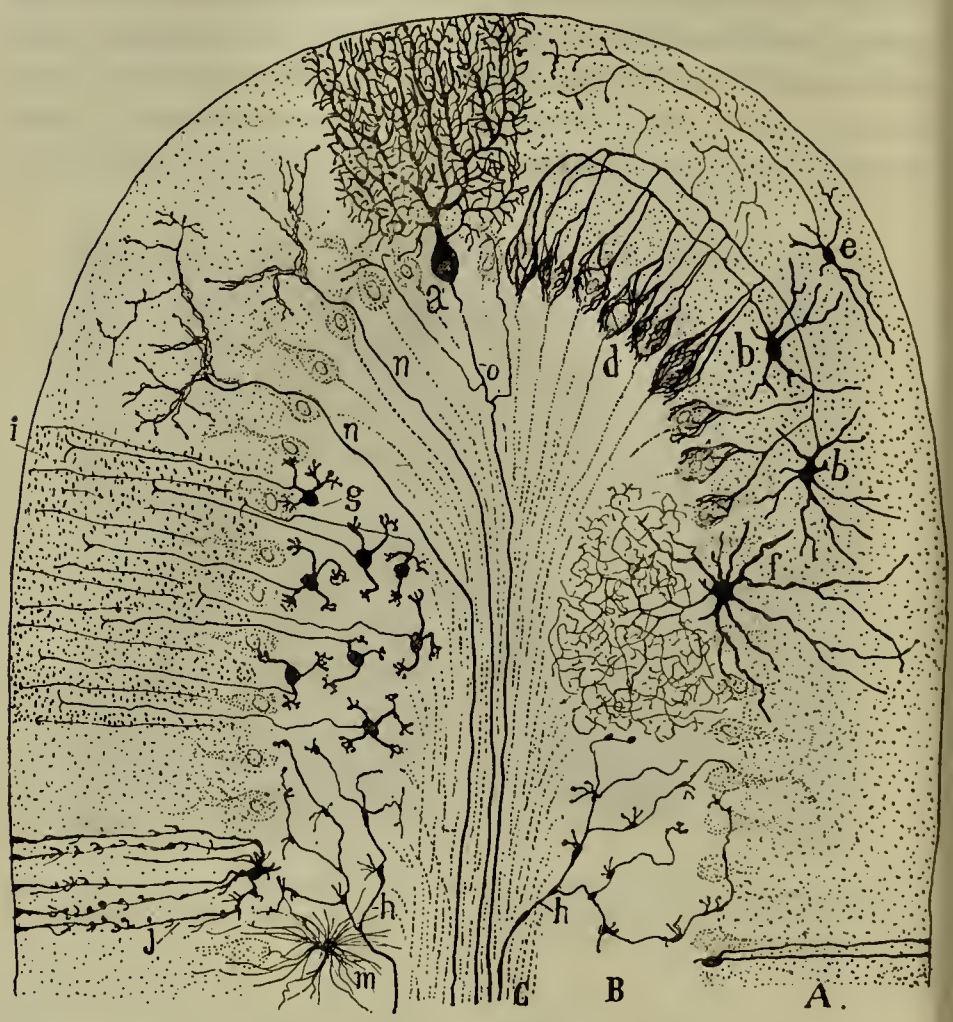

Fig. 392.—Corte transversal semi-esquemático de una circunvolución cerebelosa de mamífero.—A, zona molecular; B, zona de los granos; C, zona de substancia blanca; *a*, célula de Purkinje vista de plano; *b*, células estrelladas pequeñas de la zona molecular; *d*, arborizaciones finales descendentes que rodean las células de Purkinje; *e*, células estrelladas superficiales; *g*, granos con sus cilindros-ejes ascendentes bifurcados en *i*; *h*, fibras musgosas; *j*, célula neuróglica de penacho; *n*, fibras trepadoras; *m*, célula neuróglica de la zona de los granos; *f*, células estrelladas grandes de la zona de los granos.

Nuestras reiteradas pesquisas, primero en el cerebelo de las aves (1888), después en el de los mamíferos, nos proporcionaron el placer de resolver este punto, cuya importancia se echará de

ver si consideramos *que se trataba del primer hecho bien establecido de una terminación de cilindros-ejes en los centros nerviosos*. Hasta entonces se había seguido el trayecto, á mayor ó menor distancia, de las fibras nerviosas de la substancia gris, pero nadie había sido testigo de su modo de terminar. Desde luego, reconocimos que los cilindros-ejes de las células estrella-

Fig. 393.—Trozo de capa molecular del gato joven. — A, células de Purkinje; B, cestas en torno de estas células; C, axones de las células de cesta; *a*, axon de los corpúsculos de Purkinje.

das medias é inferiores poseen un cilindro-eje larguisimo, arciforme, no sólo paralelo á la superficie cerebelosa, como habían descrito Golgi y Fusari, sino rigurosamente transversal, es decir, paralelo al plano del ramaje de las células de Purkinje. Pero el hecho más importante consiste en que todas las ramitas colaterales descendentes, así como la arborización final de semejante fibra nerviosa, constituyen, ramificándose alrededor de los cuer-

pos de las células de Purkinje, un plexo espesísimo, íntimamente superpuesto al protoplasma; de suerte que cada cuerpo celular está forrado por una especie de cesto de ramificaciones nerviosas terminales, excesivamente espesas y varicosas (figs. 393, B, y 392, *d*). De ahí el nombre de *Endkörben* (*cestos terminales*)

Fig. 394.—Cestas nerviosas del cerebelo de un pájaro.—*a*, axon de la célula de Purkinje; *b*, fibra trepadora; *c*, ramas que unen dos cestas vecinas; *d*, ramas recurrentes.

dado por Kölliker, en su trabajo de confirmación, á tan singulares arborizaciones. El conjunto de todas las fibras que rodean el cuerpo de una célula de Purkinje se condensa por abajo, constituyendo á modo de punta de pincel que costea el primer trozo

del cilindro-eje de dicha célula, precisamente en el punto en que éste carece todavía de mielina (fig. 394).

La forma de la cesta terminal varía algo según los vertebrados explorados. En el hombre, por ejemplo, las ramas descendentes, después de aplicarse al cuerpo de la célula de Purkinje, forman un pequeño manojo ó pincel terminal. En cambio en las aves, singularmente en los pájaros, este pincel es enorme y contiene infinidad de ramas nerviosas terminales (fig. 394).

Repárese que en este pincel colaboran también ramas recurrentes, es decir, ramillas que, después de formar parte de la cesta, retroceden para acabar sobre el cuerpo celular (figura 394 *d, e*). No es raro tampoco sorprender fibras que van desde un pincel al vecino, constituyendo arcos (fig. 394, *c*) horizontales. En el gato el pincel es pobre (fig. 393, B), existiendo apenas punta descendente y presentándose muy típicamente la figura de cesta.

Por esta descripción rápida y por el dibujo que está á la vista (figuras 392, *d*, y 393, B), se comprende bien que el objeto de semejante disposición no puede ser otro que establecer una relación dinámica, una verdadera comunicación de corriente entre los elementos estrellados susodichos y las células de Purkinje.

Las cestas mencionadas se impregnan admirablemente en color rojo café transparente por el método del nitrato de plata reducido, que revela las neurofibrillas de que constan y el pincel libre terminal. Las anastomosis, hace algunos años descritas por Held y Bethe, quienes se valieron de métodos imperfectos, son una ilusión. También Bielschowsky ha coloreado las susodichas cestas con un método especial (1904), confirmando, en principio, nuestra ya antigua descripción.

En la figura 395 presentamos una célula estrellada del cerebelo del perro teñida por el nitrato de plata reducido. Nótese el delicado armazón neurofibrillar del soma y el haz de fibrillas elementales de que el axon se compone. Una particularidad interesante consiste en la delgadez inicial del axon, que parece formado de una sola neurofibrilla *(a)* y su progresiva transformación en recio haz fibrilar. Semejante multiplicación neurofibrilar, que se acentúa todavía en las ramas nerviosas descendentes *(c)*, habla en contra de la conductibilidad exclusiva de las neurofibrillas, defendida por diversos autores.

Las células *estrelladas pequeñas* yacentes en el tercio externo de la zona plexiforme poseen también axon horizontal, de ordinario

flexuoso, pero sus ramillas colaterales y terminales se reparten en la mencionada capa sin descender hasta las células de Purkinje ni engendrar, por tanto, nidos terminales (figs. 392, *e*, y 393, *c*).

En fin, las células de cesta poseen un legítimo retículo de Golgi, pobre en cordones en los corpúsculos superficiales, más rico en los profundos, casi siempre concentrado del lado del arranque de la más robusta dendrita.

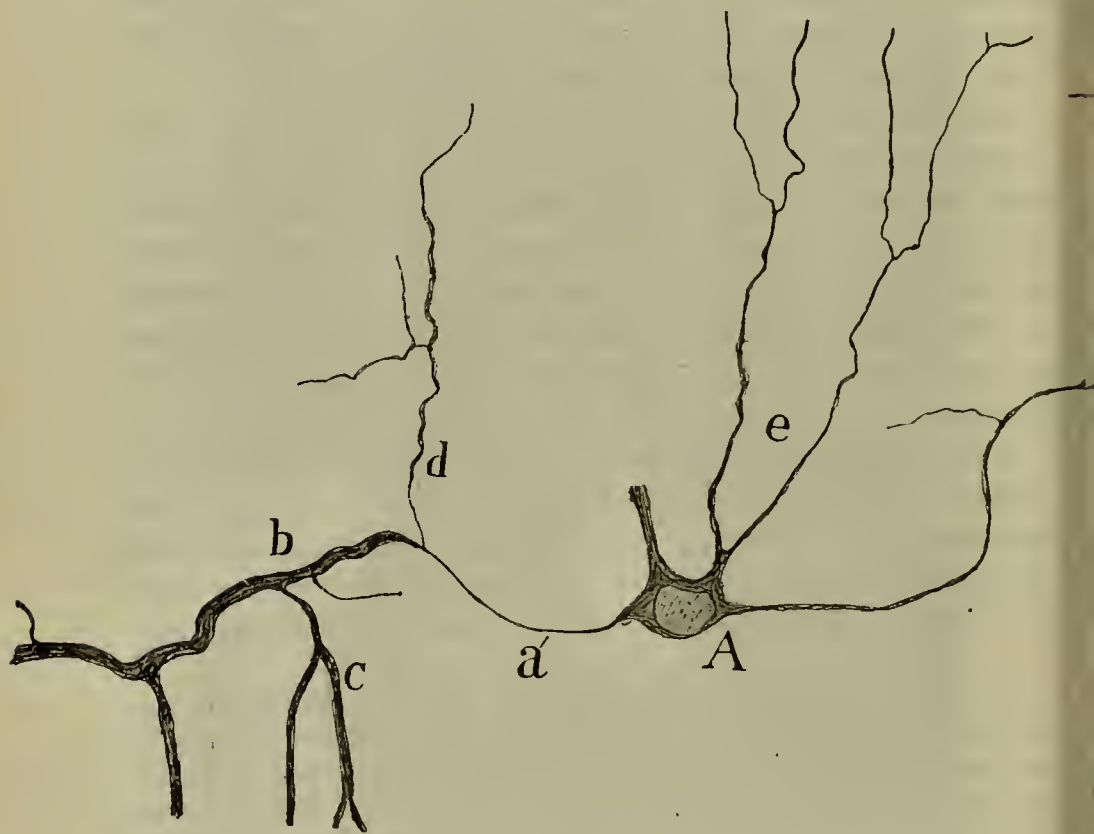

Fig. 395. - Célula estrellada ó de cesta de la capa molecular del cerebelo del perro. Método del nitrato de plata reducido. — A, cuerpo celular; *a*, porción estrangulada del axon; *b*, porción ensanchada; *e*, dendritas; *d*, rama nerviosa ascendente; *c*, ramas descendentes destinadas á las cestas.

Capa de los granos. — *Granos.* — Son corpúsculos pequeñísimos (de 4 á 6 μ), escasos en protoplasma, que forman una masa apretadísima por debajo de la zona molecular. En el lado somático más rico en protoplasma reside un minúsculo aparato de Golgi reducido á un fino cordón replegado á veces en herradura (Cajal) (fig. 396, D). Golgi había demostrado en estos elementos varias expansiones; sin embargo, no acertó á precisar

bien la terminación de las prolongaciones protoplasmáticas ni logró perseguir la funcional (fig. 397, *a*).

Las *expansiones protoplásmicas* son cortas, en número de tres ó cuatro, y acaban todas á favor de una arborización reducida, digitiforme, que converge en las emanadas de los granos vecinos. La *expansión nerviosa* es finísima, sube á la zona

Fig. 396.—Corte del cerebelo de perro de veinticinco días.—A, red de Golgi de las células de Purkinje; B, C, células voluminosas de axon corto; D, pequeño aparato de Golgi de los granos; *a*, puentes colágenos perforantes nacidos de la adventicia.

molecular y, á diferentes alturas de la misma, se divide en T, constituyendo una fibra longitudinal, es decir, paralela á la dirección de la laminilla cerebelosa y, en consecuencia, perpendicular al ramaje de las células de Purkinje. Esta fibra, llamada también *paralela*, no emite rama ninguna en su trayecto, y se prolonga hasta el confín de la laminilla cerebelosa, donde acaba tocando casi en la substancia blanca, á beneficio de un engrosa-

miento varicoso y libre. De lo que se deduce que la fibra paralela producida por la bifurcación del cilindro-eje de los granos, representa una arborización nerviosa terminal reducida á su mayor simplicidad (fig. 397, A, *b*). Claro está que, dada la enorme longitud de una laminilla del cerebelo en los mamíferos adultos, no es posible la completa persecución de una fibra paralela; mas afortunadamente, en los vertebrados inferiores (reptiles y batracios), y aun en los fetos de pequeños mamíferos, dicha persecu-

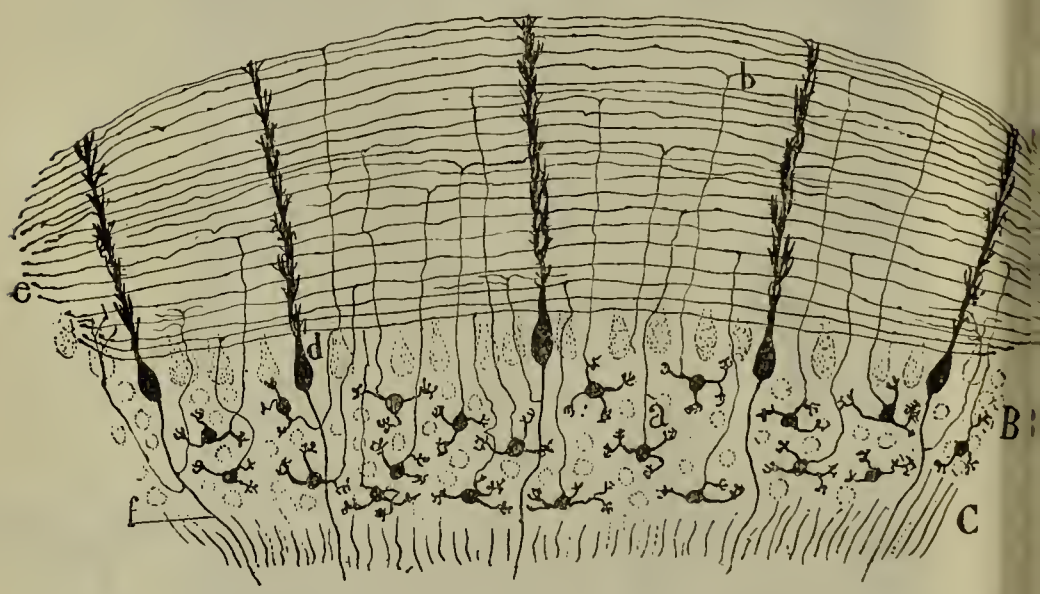

Fig. 397. — Corte longitudinal de una laminilla cerebelosa. Figura semiesquemática. — A, capa molecular; B, capa de los granos; C, substancia blanca; *a*, axon del grano; *b*, su bifurcación en la capa molecular; *e*, su terminación en los cabos de cada laminilla cerebelosa; *d*, célula de Purkinje vista de canto.

ción es relativamente fácil. Digamos de pasada que la disposición de los granos y sus fibras, así como la de las células de Purkinje y tubos de la substancia blanca, es esencialmente idéntica en todos los vertebrados, según han demostrado las indagaciones de mi hermano (P. Ramón).

Si consideramos ahora que el infinito número de las fibrillas paralelas descansan sobre las espinas y asperezas que lateralmente ofrecen las ramas protoplásmicas de las células de Purkinje; si recordamos que no existen en la zona molecular otros elementos con los cuales puedan (al menos de tan directa y efi-

caz manera) establecer conexión, vendremos naturalmente á la conjetura que las tales fibrillas representan un medio de unión por contacto entre los granos y las células de Purkinje.

Células estrelladas grandes. — En la zona de los granos habitan también unas grandes células, pocas en número y bien

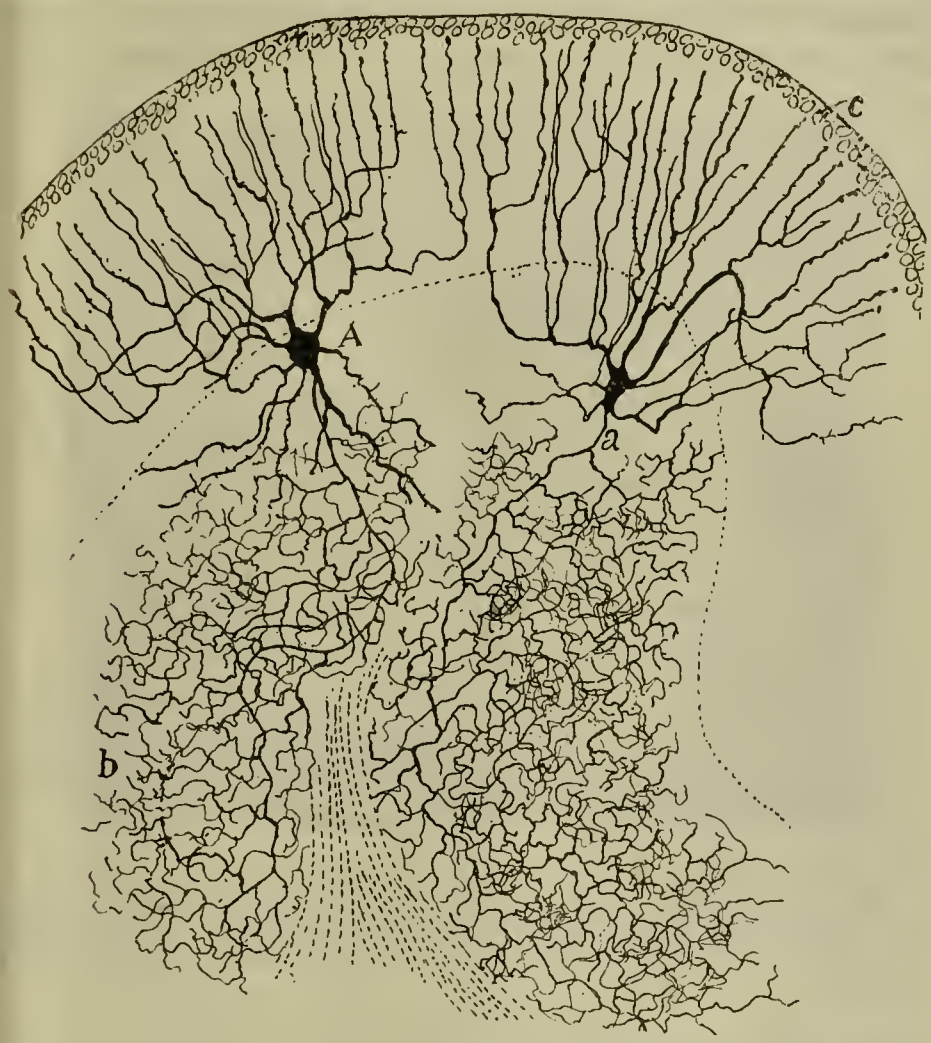

Fig. 398. — Dos células estrelladas grandes de la capa de los granos. Gato de algunas semanas.—A, cuerpo de la célula; *a*, axon, *b*, plexos nerviosos terminales.

descritas por Golgi. Contienen protoplasma abundante, salpicado de finos grumos de Nissl y un aparato de Golgi bien desarrollado. Su ramaje protoplasmático diverge en todas direcciones, invadiendo á veces una gran parte de la zona molecular; su ci-

lindro-eje flexuoso se consume luego en una infinidad de ramificaciones que se pierden entre los granos. Golgi pensó que esta arborización nerviosa desembocaba en una red compleja donde se encontrarían casi todas las fibras nerviosas del cerebelo; pero, en mi sentir, su terminación tiene lugar libremente mediante extremos varicosos, arciformes y superpuestos al cuerpo y sobre todo á las dendritas de los granos (fig. 398, A). El paraje donde

Fig. 399. — Glomérulos cerebelosos de la capa de los granos. Perro adulto. Método del nitrato de plata reducido. — A, grano; B, células de Golgi; *a*, ramificación dendrítica del grano en el glomérulo; *c*, fibra musgosa; *d*, rosáceas terminales de ésta dentro de un glomérulo; *e*, anillos terminales.

especialmente convergen estas ramillas, no es otro que los *glomérulos cerebelosos*, territorios de la capa de los granos exentos de núcleos, y donde concurren y entran en contacto los factores siguientes: el penacho digitiforme de los granos; las eflorescencias de las fibras musgosas, y las citadas ramillas nerviosas de las células de Golgi, ó gruesas estrelladas de la capa de los granos (fig. 399, *a*).

De mis recientes trabajos sobre las grandes células estrelladas de esta zona, resulta que algunas pertenecen al tipo ganglionar del *cilindro-eje largo,* penetrando éste en la substancia blanca y saliendo quizás del cerebelo, con alguno de los pedúnculos.

Substancia blanca. — Consta de tres especies de fibras nerviosas: 1.ª, cilindros-ejes descendentes que provienen de las células de Purkinje; 2.ª, fibras nerviosas espesas, ascendentes y ramificadas entre los granos (fibras *musgosas*); 3.ª, fibras espesas ascendentes, ramificadas en la capa molecular (fibras *trepadoras*).

Cilindros-ejes descendentes. — Los hemos descrito ya. Pocos en número, bajan de las células de Purkinje, convergiendo en abanico hasta la substancia blanca para terminarse fuera del cerebelo, en otros centros nerviosos, quizás en la oliva cerebelosa.

Fibras musgosas. — Gruesas, finamente ramificadas, las dimos este nombre por la singularidad que tienen de presentar, de trecho en trecho, ciertos espesamientos nudosos, erizados de cortas expansiones divergentes á manera de rosáceas, y semejantes al musgo que cubre los árboles (figs. 399, *c,* y 400, *b*, *c*).

No pasan estas fibras y sus ramificaciones de la capa de los granos, y se terminan, ya por nudosidades libres, ya á beneficio de rosáceas ascendentes análogas á las citadas. Mediante estas ramitas, dichas fibras parecen ponerse en relación con las ramificaciones protoplásmicas de los granos, á los que conducen corrientes de otros centros nerviosos actualmente indeterminados. Los parajes en que ocurren estos contactos se llaman *placas* ó *glomérulos cerebelosos* (fig. 399, *d*). Es probable también que las ramificaciones terminales, á veces bastante extensas, de las fibras musgosas, se hallen destinadas á relacionarse con el cuerpo y ramas de las células de Golgi.

El método del nitrato de plata reducido revela, al nivel de las excrecencias musgosas, deshilachamiento ó apartamiento de las neurofibrillas. En los cabos terminales adviértense asas neurofibrillares y redes intraprotoplásmicas complicadas (1903). Estos interesantes detalles, que han sido confirmados por Bielschowsky (1904) y Wolff (1906), aparecen en la figura 399, *c, d,* donde se demuestra que los *glomérulos cerebelosos* representan, según

dejamos consignado, el punto de encuentro de las dendritas de los granos y de las ramas de las fibras musgosas. En la citada figura las ramas finales de las fibras musgosas, así como las dendritas de los granos, se muestran muy delgadas á causa de que los métodos neurofibrillares no impregnan sino el eje fibrilar central, dejando sin teñir la recia capa de neuroplasma de las arborizaciones terminales.

Fig. 400.—Fibras musgosas del cerebelo.—*a*, arborización terminal de una fibra musgosa; *b*, arborización colateral; *c*, pequeña intumescencia de trayecto.

Fibras trepadoras. — Son unas fibras espesas, meduladas, poco ó nada ramificadas á su paso por los granos, las cuales, una vez arribadas á la zona molecular, se aplican al tallo ascendente de las células de Purkinje, remontando por él como las lianas á lo largo de las ramas de un árbol tropical. Su terminación tiene lugar mediante una arborización varicosa y plexiforme, aplicada á las gruesas ramas primarias y secundarias de los corpúsculos de Purkinje, por cuyo motivo, cuando se impregna sólo dicha arborización, muestran sus ramos una orientación que traduce fielmente la de las expansiones protoplásmicas de aquellos elementos. Semejante disposición constituye otro caso elocuentísimo de enlace nervioso por contacto, donde, como en

la placa de Rouget de los músculos, un cilindro-eje se arboriza sobre una célula gigantesca, á la que lleva una excitación originada en otros centros (fig. 401, *a)*. La arborización terminal de las fibras trepadoras ofrece en el cerebelo humano un gran desarrollo (fig. 401). Por lo demás, nuestro encuentro de las

Fig. 401.—Fibra trepadora del cerebelo del hombre adulto *(a)*; *b*, cuerpo de la célula de Purkinje.

fibras *trepadoras,* así como el de las *musgosas,* fué confirmado por numerosos autores (Kölliker, Retzius, van Gehuchten, P. Ramón, Athias, Lugaro, etc.).

Cuando se estudia un corte de laminilla cerebelosa teñida por el método de Weigert-Pal, se advierte entre los granos un plexo de fibras meduladas que disminuye progresivamente en riqueza

hacia la capa molecular, en la cual sólo se ven, junto á las células de Purkinje, algunas pocas fibras longitudinales.

La comparación de estas preparaciones con las obtenidas por el método de Golgi, enseña que las fibrillas paralelas de la capa molecular, las arborizaciones trepadoras, los pinceles descen-

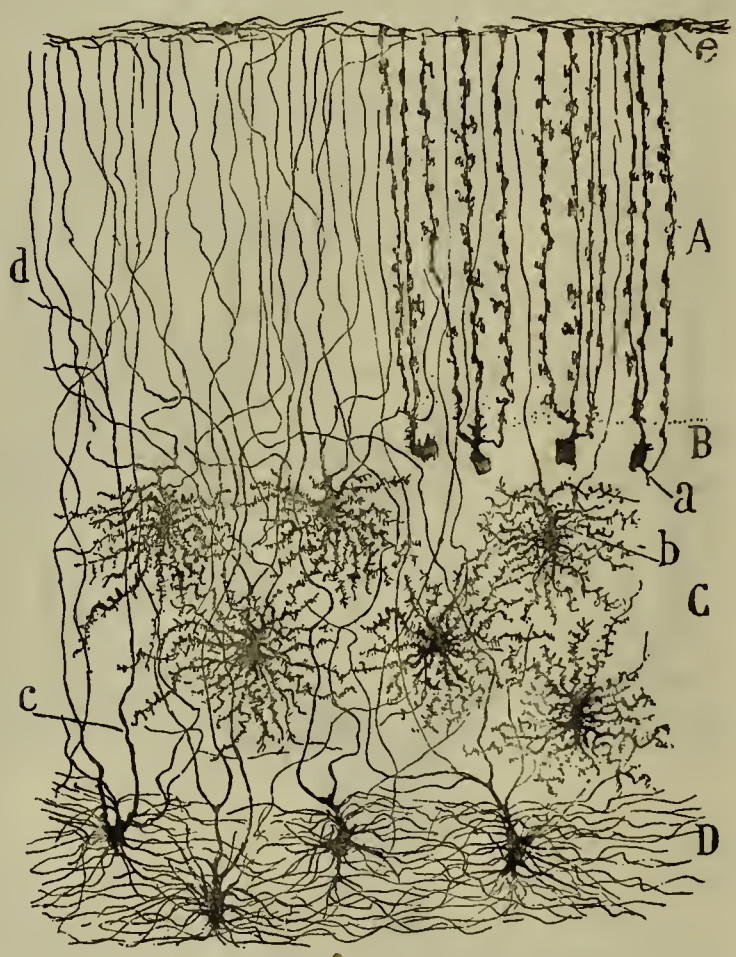

Fig. 402. — Neuroglia del cerebelo (según Terrazas). — A, B, células epitélicas ó radiadas; C, zona de los granos con elementos neuróglicos de cortas radiaciones provistos además de hebras radiales; D, neuroglia de la substancia blanca ó de finas y largas radiaciones.

dentes ó cestas terminales, carecen de mielina; pero que poseen esta envoltura los cilindros-ejes de las células de Purkinje y el trayecto de las fibras musgosas y trepadoras.

Las fibras trepadoras se colorean muy bien por el nitrato de plata reducido, el cual revela que las últimas ramillas constan

de una neurofibrilla. Es verosímil que las ramas ascendentes de los axones de Purkinje contribuyan también á complicar el plexo trepador de los tallos de la célula de este mismo nombre.

Neuroglia del cerebelo (fig. 402). — Posee el cerebelo tres especies de células neuróglicas: 1.ª, los corpúsculos de forma de horquilla, cuyo cuerpo reside en la zona de las células de Purkinje y cuyas ramas, en número de dos ó más, ascienden por la capa molecular y se terminan, mediante ensanchamiento, en la superficie cerebelosa (*a*); 2.ª, las células estrelladas (*b*) de la capa de los granos, notables por presentar en sus apéndices excrecencias laminares y alcanzar algunas de sus más largas expansiones la zona molecular; 3.ª, los corpúsculos estrellados de la substancia blanca, provistos de largas y lisas expansiones separatorias de los tubos nerviosos (D). De todas estas células sólo el tipo tercero es coloreable por el método especial de Weigert (1). Recientemente Tello (1914), usando el método del sublimado oro, ha señalado en el espesor de la capa molecular la existencia de células neuróglicas especiales, recias, fusiformes, con apéndices laterales rizados y varicosos y que parecen células epiteliales de tipo de horquilla dislocadas.

(1) Véase el trabajo de Terrazas: La neuroglia del cerebelo, etc. *Revista trimestral micrográfica,* tomo II, núm. 2, 1897.

CAPÍTULO XXVI

CORTEZA CEREBRAL FUNDAMENTAL

La substancia gris de las circunvoluciones exhibe una textura fundamentalmente idéntica en los mamíferos y en cualquiera región cerebral que se estudie. Esta textura general ó esencial se refiere á la constitución de *la corteza típica,* ó *de la corteza general.* Importa, empero, advertir que, dentro del plan cardinal aludido, cada región del cerebro exhibe algunas disposiciones específicas constitutivas de lo que se llama *corteza regional.* En general, el cerebro del hombre es muy superior al de los animales, mas sus perfeccionamientos no afectan ni á la morfología ni al enlace de las células, sino al número de éstas, y á la mayor longitud y ramificación de las expansiones protoplásmicas y colaterales nerviosas.

La corteza cerebral fundamental consta de fuera á adentro de las siguientes capas: 1.ª, ó *zona molecular;* 2.ª, ó *zona de las pequeñas pirámides;* 3.ª, ó *de las grandes;* 4.ª, ó *de los corpúsculos polimorfos.* Las capas 1.ª y 4.ª se distinguen bien de sus limítrofes; pero no así la 2.ª y 3.ª, que se confunden por suaves transiciones (fig. 403). En esta enumeración nos referimos, sobre todo, al cerebro de los pequeños mamíferos. En el hombre hay que añadir, entre la zona 3.ª y 4.ª, otra zona designada *capa de los granos.* La zona 4.ª subdivídenla algunos autores en tres estratos: *a,* capa de las pirámides grandes profundas; *b,* capa de las células piramidales y triangulares medianas, y *c,* capa de los corpúsculos fusiformes. En suma; la mayor parte de la corteza cerebral humana muestra, según hicieron notar hace tiempo Meynert, Hammarberg y modernamente Edinger, nosotros, O. Vogt, Schaper, Brodmann, etc., siete capas concéntricas, sin contar la *zona de las medianas pirámides,* que algunos autores señalan entre la 2.ª y la 3.ª.

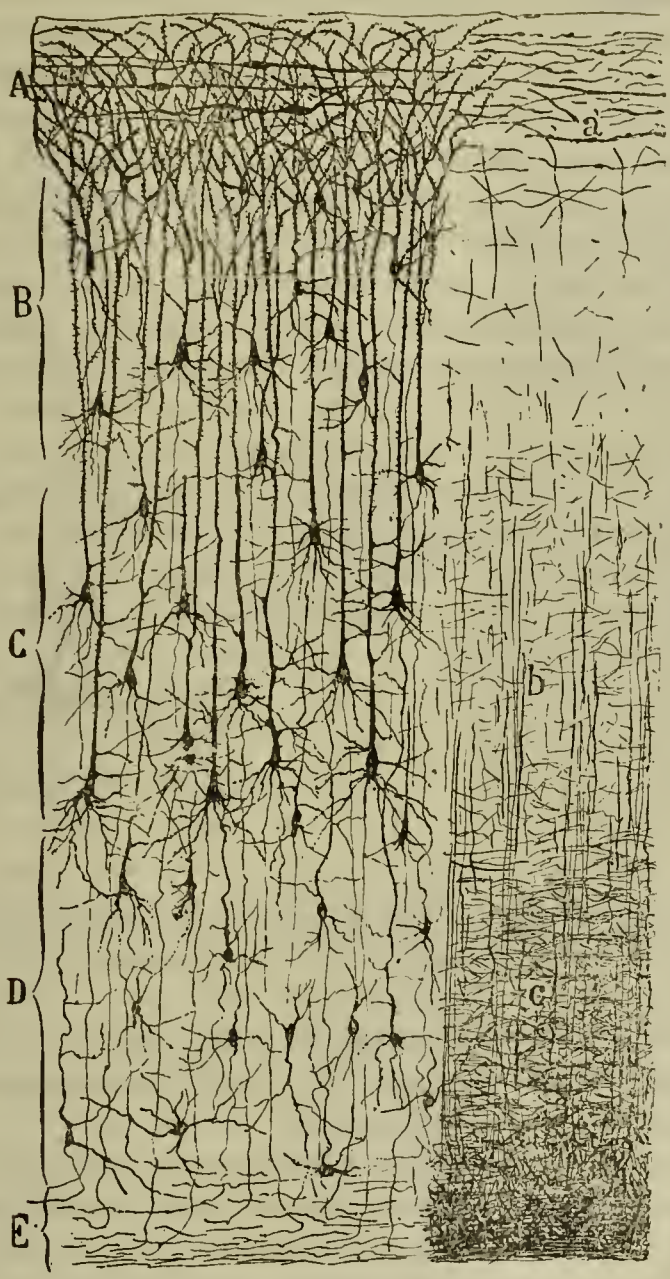

Fig. 403.—Corte de la corteza cerebral del conejo de ocho días. La porción derecha de la figura representa las fibras nerviosas meduladas reveladas por el procedimiento de Weigert; la porción izquierda muestra las células nerviosas, tales como aparecen por el método de Golgi.—A, capa molecular; B, capa de pequeñas pirámides; C, capa de pirámides grandes; D, capa de células polimorfas; E, substancia blanca; *a*, fibras meduladas de la capa molecular; *b*, haces de cilindros-ejes; *c*, plexos de colaterales.

Zona molecular. — Cuando esta capa se examina en cortes de cerebro simplemente teñidos con carmín, ó con las anilinas, exhibe una apariencia finamente granulosa ó reticulada. Acá y allá se muestran unos núcleos pequeños, correspondientes á células de neuroglia, especialmente abundantes junto á la pía-mater, y otros núcleos mayores, sumamente escasos, rodeados de un cuerpo protoplásmico triangular ó fusiforme que corresponden probablemente á células nerviosas. En la porción más superficial de la zona molecular, Kölliker descubrió una porción de fibras horizontales con mielina, que más tarde confirmaron

Fig. 404. — Células de axon corto de la capa molecular de la corteza cerebral del gato. — A, célula de tamaño mediano y de axon descendente bastante largo; B y C, corpúsculos pequeños de axon répidamente arborizado.

Exner, con su método al ácido ósmico y amoníaco, y Edinger, Obersteiner, Todlt, Martinotti, etc., con el procedimiento más valioso de Weigert-Pal (fig. 403, *a*).

Poco ó nada se sabía tocante al origen de estas fibras nerviosas, de las cuales sólo algunas parecen descender á capas más hondas de la corteza, hasta que hace cuatro lustros Martinotti, haciendo uso del método de Golgi, demostró dos hechos importantes: que algunas de tales fibras se acodan para hacerse verticales y continuarse con cilindros-ejes ascendentes procedentes de ciertas pirámides, y que la mayor parte de las fibras horizontales de la citada zona se ramifican repetidamente como si fuesen arborizaciones terminales de cilindros-ejes.

Nuestros estudios sobre esta zona han revelado la existencia de los siguientes elementos:

1.° *Células poligonales.* — Son de mediano tamaño (figura 404, A), y de sus ángulos brotan varias expansiones protoplásmicas ramificadas en el espesor mismo de la capa molecular; el cilindro-eje es corto y se descompone en una ramificación extensa ralacionada, al parecer, con los penachos terminales de las pirámides.

2.° *Células especiales de la corteza (Cajal'sche Zellen de Retzius).* — Son células, ya fusiformes, ya triangulares, ya estrelladas, tendidas horizontalmente en el espesor de la capa molecular y caracterizadas por poseer expansiones larguísimas parecidas á cilindro-ejes y ramificadas en ángulo recto. Las más finas de estas ramificaciones no pueden distinguirse de las ramillas nerviosas que circulan por esta zona y acaban libremente en ella, después de un trayecto horizontal variable. La ausencia de diferenciación entre expansiones protoplásmicas y nerviosas aproxima estos singulares corpúsculos á los espongioblastos de la retina ó los llamados granos del bulbo olfatorio (figs. 403, A, y 405, A, B). No obstante, indagaciones de Veratti y nuestras en la corteza humana nos han convencido que una de las expansiones es mucho más larga que las otras, posee forro medular, y debe estimarse por axon. La reunión de todas estas fibras nerviosas autóctonas, junto con las que ascienden de las zonas subyacentes, constituye en la primera capa cerebral un plexo apretadísimo, por entre cuyas mallas pasan las ramas terminales de los penachos ascendentes de las pirámides (fig. 403). Es imposible no considerar esta singular disposición, que por cierto se halla con los mismos caracteres en todos los vertebrados, como un importante ejemplo de transmisión nerviosa por contacto, comparable á la que se verifica en el cerebelo entre las fibrillas paralelas y las arborizaciones protoplásmicas de las células de Purkinje (figs. 406 y 403, A). Este contacto sería transversal ú oblicuo, para lo cual las ramas terminales de las pirámides poseen unas espinas colaterales cortas, en cuyos intervalos parecen ser cogidas estrechamente las más finas fibrillas nerviosas exentas de mielina. En la figura 405 mostramos los tipos morfo-

lógicos más comunes residentes en la corteza cerebral humana.

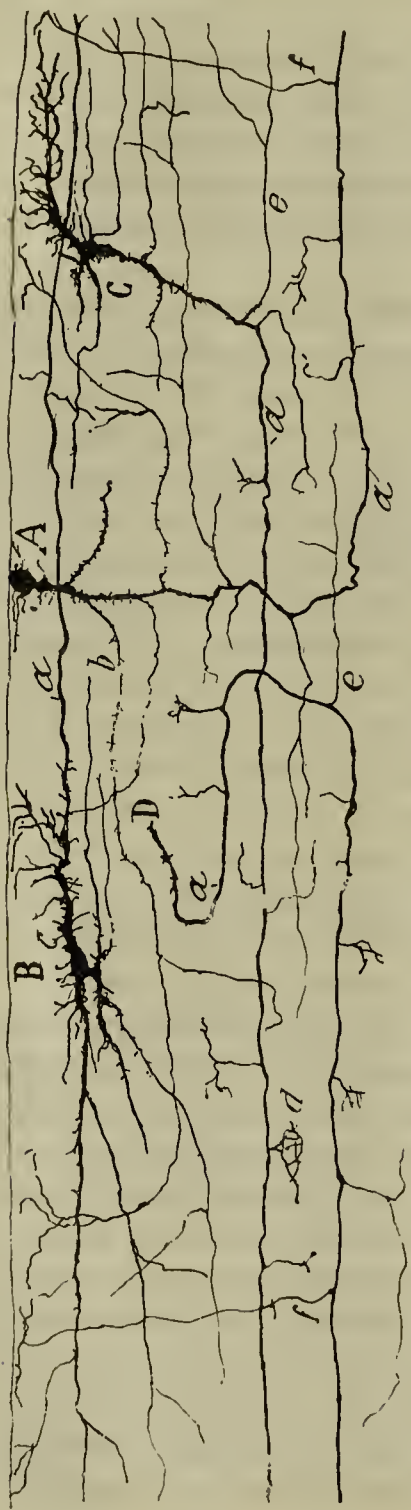

Fig. 405. — Algunas células especiales de la capa molecular del cerebro de un niño de un mes. — A, célula marginal ó piriforme; B, célula fusiforme; C, célula triangular; D, axon de una célula no impregnada; *b*, dendritas tangenciales largas; *c*, dendritas cortas; *d*, *e*, ramas nerviosas.

Nótese que, atendiendo á la forma, podrían clasificarse en *piriformes* ó *marginales* (A), *fusiformes* (B) y *triangulares* ó *estrellados* (C). Repárese que el axon (*a*) es una relativamente recia expansión, que es preciso no confundir con las largas dendritas marginales ó tangenciales (*b*), propias de tales elementos.

Zona 2.ª ó de las pirámides pequeñas. — Consta de muchos elementos poliédricos ó piramidales, de pequeña ó mediana talla (de 10 á 12 μ).

Toda célula piramidal, ya pertenezca á ésta ó á las demás capas cerebrales, posee caracteres morfológicos generales que conviene reseñar antes de proceder al examen particular de cada capa. El cuerpo es cónico ó piramidal, con una base inferior, de la que parte siempre el cilindro-eje. Las expansiones protoplásmicas son muy numerosas, y deben distinguirse por su origen, en: *tallo ascendente* ó *expansión primordial; colate-*

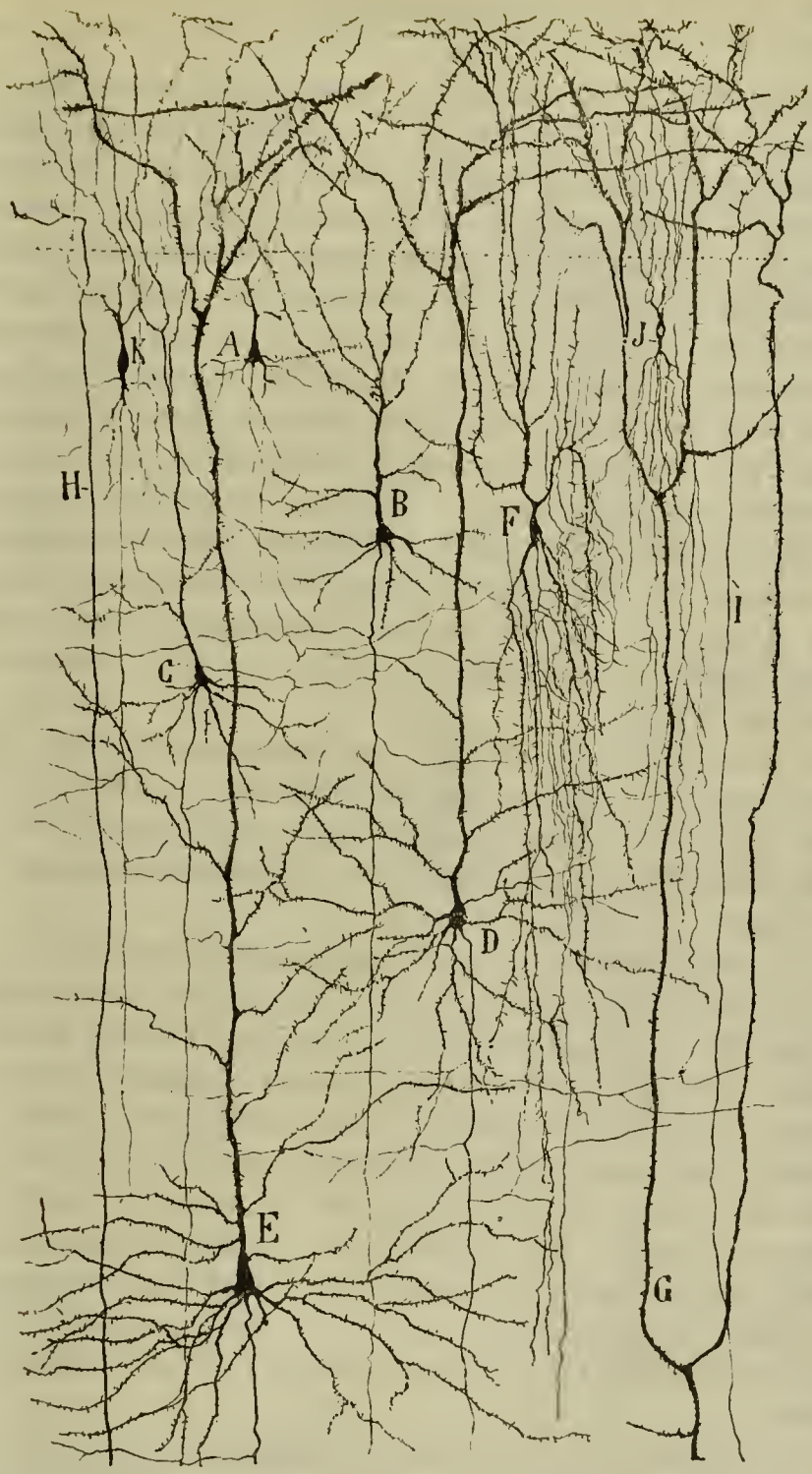

Fig. 406. — Capas 1.ª, 2.ª, 3.ª y 4.ª de la corteza cerebral humana.— A, B, C, pirámides pequeñas con sus penachos terminales en la capa molecular; D, pirámide mediana; E, pirámide grande; G, tallo bifurcado de una gruesa pirámide; F, J, corpúsculos bipenachados de axon corto.

rales del tallo, y expansiones basilares ó procedentes del cuerpo celular (figuras 406, B, E, y 407). *El tallo* es espeso, y dirígese á lo alto del cerebro, paralelamente al de las demás pirámides, y en cuanto llega á la zona molecular, se descompone en un elegante penacho de ramas protoplásmicas, terminadas libremente entre las fibrillas nerviosas de dicha zona. La reunión de todos los penachos periféricos, da origen á un plexo protoplásmico tupidísimo, al cual se debe el aspecto finamente reticulado que muestra esta parte de la corteza en las preparaciones ordinarias al carmín. *Las expansiones laterales del tallo* proceden, en ángulo recto ó agudo, al nivel de un ensanchamiento, dirígense á los lados y acaban libremente tras algunas dicotomías (fig. 407, *b*). *Las expansiones basilares* proceden del cuerpo y se dirigen, ya hacia los lados, ya hacia abajo, ramificándose sucesivamente y perdiéndose en las inmediaciones (fig. 407, *a*).

Si se examina una pirámide con buenos objetivos de inmersión, se advierte que, á excepción del cuerpo y región inicial del tallo, todas las expansiones dendríticas están erizadas de espinas, perpendicularmente implantadas y terminadas por una varicosidad.

Las expansiones protoplásmicas delgadas, exhiben, además, coloreadas por el método de Ehrlich, un aspecto sumamente varicoso, tomado como disposición normal por Dogiel, Renaut y otros. Tales varicosidades, que atraen vivamente el azul y se hallan á menudo ahuecadas por una vacuola clara, deben estimarse como alteraciones provocadas por la acción del aire (al cual hay que exponer mucho rato las células en fresco para lograr el teñido), pues no aparecen en las preparaciones de Golgi, en las cuales la coloración va precedida de la acción de un fijador enérgico, ni se ven en las primeras fases del teñido de Ehrlich, cuando la acción perturbadora del aire es poco acentuada.

El *cilindro-eje* de las pirámides procede, como hemos dicho, de la base de las mismas ó del origen de una expansión protoplásmica basilar, dirígese hacia abajo, cruza todas las capas cerebrales y aborda la substancia blanca, donde se continúa con

un tubo nervioso (fig. 407, *e*). Creíase por los autores que esta continuación se verificaba siempre por un acodamiento; pero nosotros hemos demostrado que á veces tiene lugar por una bifurcación, originándose, por tanto, dos tubos de la substancia blanca. Durante su trayecto por la substancia gris (fig. 407, *c*), el cilindro-eje emite colaterales finas en número de 6 á 10, que, desprendiéndose en ángulo recto y marchando, ya horizontal, ya oblicuamente, acaban por dos ó tres ramúsculos muy delicados. Las colaterales nacen al nivel de estrangulaciones intensamente coloreables con el azul de metileno. El origen del axon atrae poco el color; pero éste impregna intensamente el punto próximo al origen de la vaina medular.

La estructura de las células nerviosas piramidales del cerebro responde casi enteramente al tipo motor

Fig. 407.—Célula piramidal del cerebro del conejo. Tipo celular de cilindro-eje largo.—*a*, expansiones protoplasmáticas basilares; *b*, tallo y sus ramas; *c*, colaterales del cilindro-eje; *e*, cilindro-eje largo; *d*, substancia blanca.

de la médula. Poseen: núcleo esferoidal ú ovoideo, compuesto de un grupo de esférulas cromáticas y de uno ó varios cuerpos accesorios; grumos de Nissl finos, esparcidos por todo el soma y especialmente acumulados encima del núcleo y arranque del tallo principal, y, en fin, numerosos haccecillos de finísimas neurofibrillas, las cuales circulan por entre los grumos de Nissl y pasan, de un lado, al axon y dendritas basilares y, de otro, á la recia expansión radial (fig. 408).

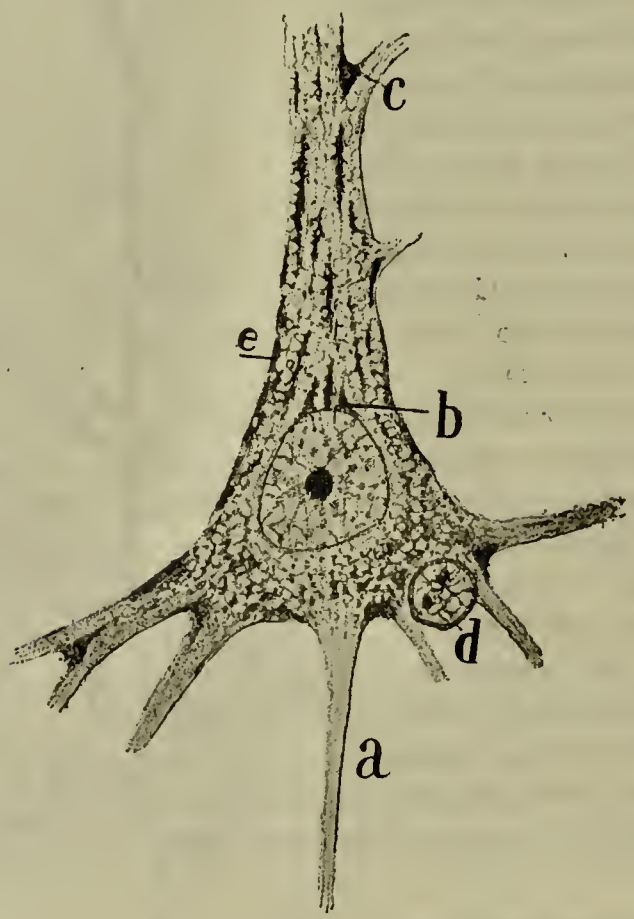

Fig. 408. — Gruesa célula piramidal del cerebro humano. Método de Nissl.— *a*, axon; *b*, cuerpo celular; *c*, dendritas del tallo; *d*, corpúsculo neuróglico pericelular.

Existen asimismo, según hemos demostrado nosotros, dos regiones neurofibrillares diferenciadas: el plexo ó red perinuclear y el plexo laxo ó cortical. En el vértice del cono del axon condénsanse tanto dichas hebras, que engendran delgadísimo cordón, notablemente ampliado en el paraje correspondiente al comienzo de la vaina medular. Añadamos aún la existencia, dentro del protoplasma, de complicados aparatos de Golgi, dispuestos en red extendida por el pro-

toplasma próximo al núcleo; esta red se prolonga un tanto en el arranque del tallo radial, pero no penetra en las dendritas (fig. 409).

Según mencionamos nosotros, en torno de muchas pirámides residen células neuróglicas, cuyos núcleos, según aparece en la figura 408, *d*, forman coronas más ó menos completas. Verosímilmente, tales elementos tienen por principal misión impedir el contacto entre el soma nervioso y fibras nerviosas de paso, es decir, destinadas á entrar en relación con otras neuronas. Recuérdese, sin embargo, que los más menudos de estos elementos pericelulares pertenecen, como dejamos expuesto en otro capítulo, al *tipo adendrítico* ó exento de expansiones.

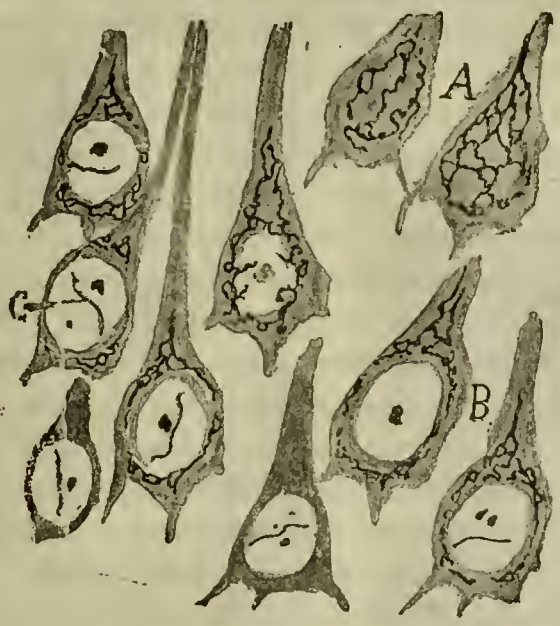

Fig. 409. — Red de Golgi de las células piramidales del conejo. — A, células enfocadas superficialmente; B, células enfocadas ecuatorialmente; C, bastoncito intranuclear.

Capa 3.ª ó de las grandes pirámides (capa *ammónica* de Meynert). — Sólo se distingue de la zona anterior por el gran tamaño de sus corpúsculos (de 20 á 30 μ) y por la mayor longitud y espesor del tallo periférico de los mismos. Hacia afuera, esta capa se confunde por gradaciones suaves de tamaño celular, con la precedente; por dentro aparece mejor limitada, aunque no es raro ver pirámides grandes, dispersas en plena zona de los elementos polimorfos (fig. 406, F).

El cilindro-eje es muy espeso; desciende casi rectilíneamen-

te, y al llegar á la substancia blanca se continúa, generalmente, con una fibra de proyección. En ocasiones, se bifurca ó suministra una gruesa colateral, que parece destinada á formar el cuerpo calloso ó comisura. Durante el trayecto por la substancia gris, estos cilindros-ejes emiten 6 ú 8 colaterales horizontales ú oblícuas, dicotomizadas dos ó tres veces; las más finas ramitas acaban libremente, mediante una nudosidad. El tallo ascendente, las expansiones basilares, etc., se comportan igualmente que en las pequeñas pirámides.

Capa de las células polimorfas (fig. 410, C). — Se hallan incluídas en esta zona alguna que otra pirámide, ya gigante, ya de mediana estatura, cuyo tallo periférico se dirige á la zona molecular; pero la mayor parte de los elementos que aquí yacen son ovoideos, fusiformes, triangulares ó poligonales. Dos notas caracterizan casi todas estas células: la falta de orientación rigurosa del tallo periférico (hay excepciones) y la circunstancia de que éste, cuando alcanza la zona molecular, punto de encuentro de los penachos de todas las pirámides, se reduce á delgada rama terminal. A veces falta el tallo periférico, estando representado por dos ó más expansiones cortas y oblícuas; y no es raro hallar células con tres expansiones protoplásmicas espesas, dos de las cuales alcanzan la substancia blanca. El cilindro-eje es fino y descendente, suministra tres ó cuatro colaterales, varias veces ramificadas, y se continúa, bien por acodamiento, bien mediante división en T, con uno ó dos tubos de la substancia blanca (fig. 410, C).

Células de cilindro-eje corto (fig. 410, E). — Mezcladas, aunque en pequeño número, con los elementos de las tres últimas capas de la corteza, se hallan dos especies celulares, caracterizadas por la particularidad de que su cilindro-eje termina arborizándose en el mismo espesor de la substancia gris. Estas dos especies son: los *corpúsculos sensitivos de Golgi* y las *células de cilindro ascendente* de Martinotti.

Los primeros (fig. 410, E) suelen ser robustos, poligonales, y envían expansiones protoplásmicas en todos sentidos. El cilindro-eje, procedente ya de la parte superior, ya de la inferior, bien de la lateral del cuerpo, marcha en dirección variable y se des-

compone á poco trecho en una arborización libre, varicosa, cuyas ramitas envuelven los cuerpos de los corpúsculos vecinos.

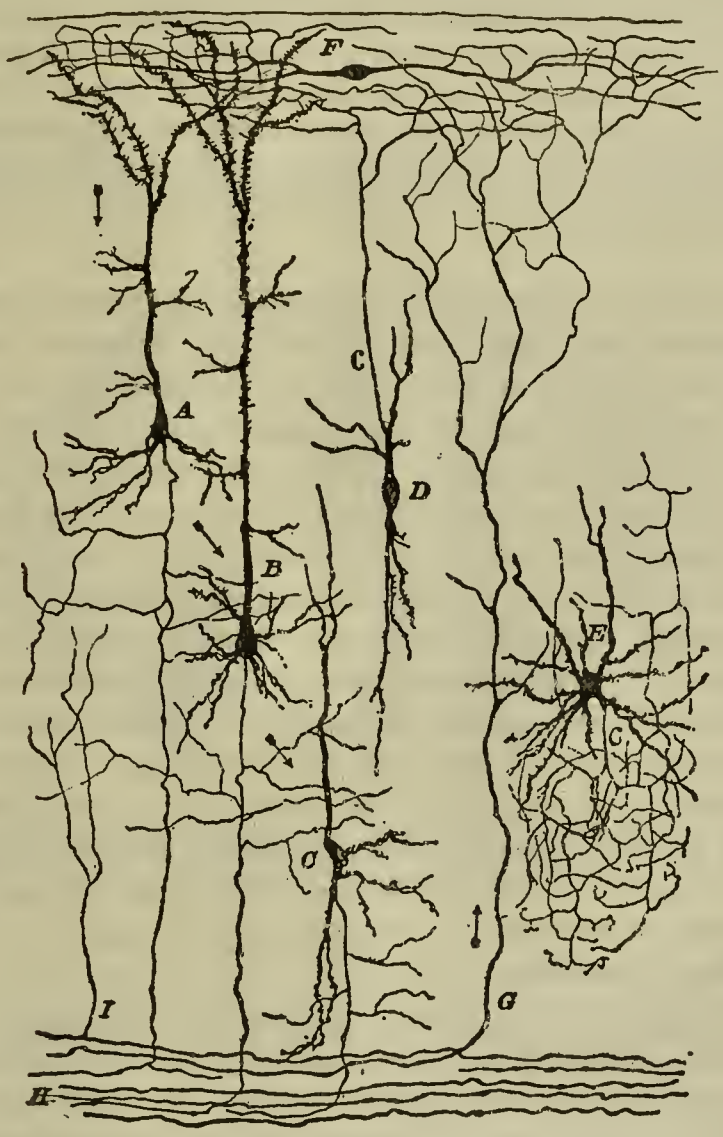

Fig. 410.— Diversos elementos constitutivos de la substancia gris cortical.— A, pirámide mediana; B, pirámide grande; C, célula de la capa de elementos polimorfos; E, célula de cilindro-eje corto; D, célula de Martinotti ó de cilindro-eje ascendente; F, célula especial de la primera capa ó plexiforme; G, fibra nerviosa terminal; H, substancia blanca; I, colateral de la substancia blanca.

En el hombre, las células de axon corto son sumamente numerosas y afectan formas y tamaños muy variables. Además del tipo grueso poligonal antes referido, descubierto hace tiempo por Golgi, en-

cuéntranse estos dos tipos: A. *Corpúsculo bipenachado* (fig. 406, F, J), así llamado por exhibir cuerpo pequeño ovoideo, y brazos dendríticos polares resueltos en pinceles radiales de finas ramillas. El axon, de gran finura, descompónese en arborizaciones pericelulares de suma delicadeza que se extienden en sentido radial y se ponen en contacto con el soma de numerosas pirámides. B. *Corpúsculo aracniforme,* es decir, diminuto elemento nervioso dotado de abundantes dendritas finas, cortas y radiadas, y provisto de un axon sutil bruscamente resuelto en arborización terminal varicosa que se dilata por área muy poco extensa.

Las células de cilindro-eje ascendente fueron mencionadas primeramente por Martinotti (fig. 410, D). Nosotros, que las hemos estudiado en los mamíferos de pequeña talla, las hemos hallado en las tres capas inferiores, pero, sobre todo, en la zona de los corpúsculos polimorfos. Son ora fusiformes, ora triangulares, con expansiones protoplásmicas ascendentes y descendentes. El cilindro-eje, que no es raro ver salir de un tallo protoplásmico ascendente, sube casi en línea recta hasta la zona molecular, donde se divide en dos á tres ramas gruesas, las cuales, extendiéndose y ramificándose horizontalmente, constituyen una arborización final de grandísima amplitud. Algunas veces la arborización final se termina, no en la primera zona, sino en la de las pequeñas pirámides, ó en capas todavía más bajas. Este tipo especial de corpúsculo de axon ascendente es extraordinariamente numeroso en la corteza cerebral humana, presentando arborizaciones terminales arborizadas por el espesor de una ó varias capas corticales.

Como variante especial de las células de axon ascendente puede contarse el *grano* de la corteza humana. Este tipo, que en la corteza de asociación constituye una formación especial *(capa de los granos),* se caracteriza por exhibir pequeño soma piramidal ó fusiforme, larga y fina dendrita radial extendida hasta la capa molecular, y axon sutil que, tras un breve trayecto descendente, se incurva para tornarse ascendente y arborizarse en las capas de las grandes y medianas pirámides. Del arco nervioso brotan colaterales delgadas descendentes, una de las cuales puede llegar hasta la substancia blanca.

Substancia blanca. — Consta de cuatro especies de fibras: 1.°, *fibras de proyección;* 2.°, *fibras callosas ó comisurales;*

3.°, *fibras de asociación,* y 4.°, *fibras centrípetas ó terminales.* Todas estas fibras aparecen confundidas en la substancia blanca de los mamíferos de gran talla (perro, carnero, vaca, hombre, etc.), siendo absolutamente imposible determinar, por la observación directa, ni su origen ni su terminación. Afortunadamente en los pequeños mamíferos las dificultades analíticas amenguan, resultando hacedera la persecución, durante un trecho bastante considerable, de muchas de estas fibras.

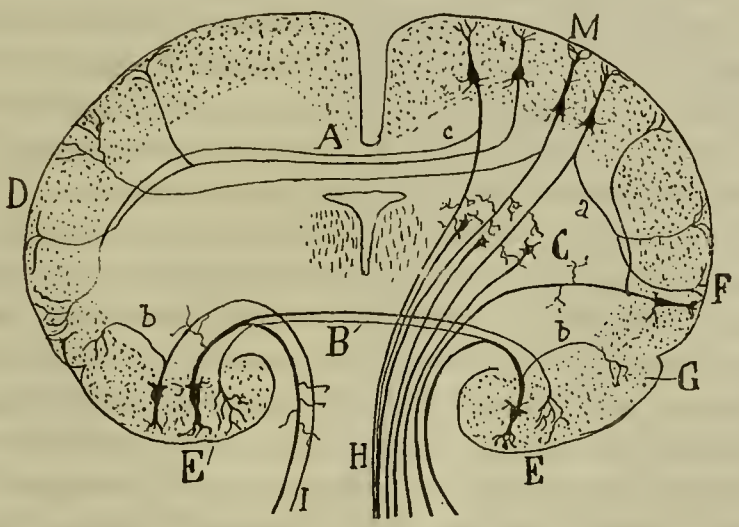

Fig. 411. — Corte frontal esquemático del cerebro de un mamífero. — M, región motriz de la corteza de donde salen fibras de proyección (H); A, fibras callosas; B, comisura anterior; C, cuerpo estriado.

Fibras de proyección. — Estas fibras nerviosas proceden de todas las regiones de la corteza, convergiendo á través del cuerpo estriado para ingresar en los pedúnculos cerebrales. En los pequeños mamíferos, en cuanto llegan á la altura del cuerpo calloso, emiten á veces una colateral gruesa para este cuerpo; luego descienden en manojitos separados á través del cuerpo estriado (fig. 411, C, H).

¿De qué células provienen las fibras de proyección? Ciertos autores, Monakow entre otros, suponen que dichas fibras son continuación exclusiva de las pirámides gigantes, mientras que las fibras de asociación y callosas tendrían su origen en pirámides pequeñas. Las observaciones que nosotros hemos realizado

tocante á este punto, aunque distan mucho de ser completas, nos parecen establecer de manera indudable que las fibras de proyección dimanan tanto de pirámides grandes como de pirámides pequeñas, sin excluir siquiera algunos corpúsculos polimorfos; y esta procedencia de células de dimensión variable podría servir para explicar por qué los hacecillos de fibras de proyección que descienden por el cuerpo estriado, contienen mezclados cilindros-ejes gruesos y delgados. En cuanto á la terminación inferior de estas fibras, nada puede decirnos la observación directa por los métodos anatómicos. Pero la anatomía patológica y el método de Flechsig nos enseñan que una buena parte de ellas constituye (por lo menos las nacidas en la *región motriz* de la corteza cerebral) la llamada *vía piramidal,* camino descendente de las incitaciones motrices voluntarias.

Fibras de asociación.—Estas fibras tienen probablemente su arranque en las tres capas de células cerebrales (piramidales pequeñas, grandes y células polimorfas); pero hasta hoy sólo hemos logrado observar *de visu* su enlace con los corpúsculos polimorfos y con tal cual pirámide gigante. Llegados que son á la substancia blanca, tales axones marchan más ó menos horizontalmente por encima del cuerpo calloso, y después de un trayecto variable, penetran en la corteza gris de una circunvolución vecina, ó en la de un lóbulo diferente, pero siempre del hemisferio del mismo lado. La terminación se verifica á favor de arborizaciones libres que se extienden preferentemente por la zona molecular. Algunas fibras de asociación se bifurcan en su camino por la substancia blanca, pudiéndose distribuir por dos ó más regiones apartadas del cerebro. En el conejo y ratón casi todas y acaso todas las fibras de asociación representan ramas de bifurcación y colaterales largas de las fibras de proyección (fig. 411, *a, b*).

Las fibras de asociación aumentan en número proporcionalmente á la cantidad de substancia gris; por eso en el hombre y grandes mamíferos, donde ésta aparece replegada en circunvoluciones, las fibras de asociación forman, por su abundancia, la masa principal de la substancia blanca. Aparte de otras condiciones, cabe afirmar que la inteligencia está en razón directa del

número y complicación de las fibras de asociación. Los grandes cerebros del elefante, ballena, etc., así como el del buey, caballo, etc., poseen muchas células de proyección, pero relativamente escasas de células de asociación.

Colaterales de las fibras de asociación. — La aplicación del método de Golgi á los mamíferos pequeños y recién nacidos nos ha permitido hallar un hecho de cierta importancia: la existencia, en muchas fibras de asociación, de ramitas colaterales finísimas, ascendentes y ramificadas en las diversas capas de la corteza gris superpuesta. Eligiendo para el conveniente examen ciertas regiones favorables, por ejemplo, la cara interna de los hemisferios, se advierte que algunas colaterales alcanzan la misma zona molecular, donde acaban por extensas arborizaciones libres, disposición que aparece también de un modo evidente en la corteza cerebral de los reptiles (fig. 410, I).

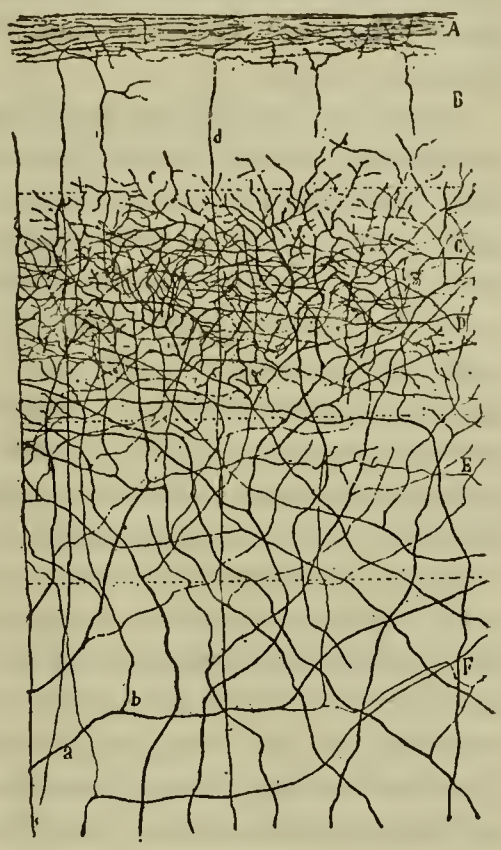

Fig. 412. — Fibras sensitivas arborizadas en la corteza cerebral motriz del gato. — A, capa molecular; B, pequeñas pirámides; C, D, capa de medianas pirámides; E, capa de pirámides gigantes; F, capa de corpúsculos polimorfos; *a*, fibra centrípeta; *b*, bifurcación; *d*, fibra ascendente de Martinotti.

Fibras callosas. — Yacen debajo de las de asociación, y en los pequeños mamíferos constituyen un plano transversal bien limitado que sirve de cubierta á los ventrículos laterales. Llama desde luego la atención, en las buenas impregnaciones del cuerpo calloso, la extrema delicadeza de sus fibras: diríase que son meras colaterales de cilindros-ejes. En las preparaciones ejecu-

tadas con el método de Weigert-Pal, ofrecen también una vaina de mielina singularmente delgada. Proceden las fibras callosas de todos los parajes de la corteza de un lado y se terminan en todos los del otro, salvo la región esfenoidal de los hemisferios, donde las fibras comisurales marchan aparte, constituyendo la comisura anterior.

Cuando se examinan cortes transversales del cerebro de un ratón recién nacido, y en el caso de que el cromato de plata se haya fijado con cierto exclusivismo en las fibras callosas, se advierte que muchas de éstas emiten, de preferencia en ciertos parajes, unas finísimas colaterales que se comportan á la manera de las procedentes de las fibras de asociación. Generalmente, cada fibra callosa suministra dos, ó lo más tres, de tales filamentos, que, ascendiendo en ángulo casi recto, se pierden en la substancia gris superpuesta, donde acaban libremente. Hay divisiones que parecen verdaderas bifurcaciones, resolviéndose la fibra comisural en una que sigue el trayecto horizontal primitivo y otra que ingresa en la substancia gris.

El origen y terminación de las fibras callosas son problemas por resolver. De algunas de ellas podemos asegurar que representan colaterales de fibras de proyección ó de fibras de asociación (fig. 411, A). Otras quizá sean la continuación de cilindros-ejes directos nacidos en pirámides corticales del otro lado.

Fibras arborizadas en la substancia gris. — Hemos dicho ya hace poco que en la corteza gris penetran fibras de asociación procedentes de territorios más ó menos lejanos de un mismo hemisferio y que estas fibras se arborizan ampliamente en la substancia gris; pero además existen otras fibras mucho más espesas procedentes quizá de los focos sensoriales primarios (focos visuales del cuerpo geniculado externo y tubérculo cuadrigémino anterior, foco acústico del tubérculo cuadrigémino posterior, foco sensitivo del tálamo óptico, etc.), las cuales, marchando de ordinario oblicua ú horizontalmente por el espesor de la substancia gris, constituyen en todo el espesor de ésta, de preferencia en las capas centrales, una ramificación de enorme extensión (fig. 412). Las últimas ramas forman arborizaciones varicosas que parecen envolver las medianas pirámides.

Corteza regional. — Hasta aquí nos hemos ocupado del estudio de la corteza cerebral en abstracto, es decir, de los factores esenciales constructivos de la substancia gris cortical y comunes al hombre y mamíferos. Pero, en realidad, cada región del cerebro, aunque coincidente con las demás en sus rasgos anatómicos esenciales, posee textura propia como adaptación á la especial función que le está encomendada.

Porque, lejos de constituir un órgano único y homogéneo, la corteza cerebral representa, según prueban los resultados coincidentes de la fisiología experimental y de la anatomía patológica, una pluralidad de esferas ó centros de actividades y conexiones específicas.

Tales centros ó regiones dinámicamente diferenciados distribúyense en dos grupos: 1.°, *centros perceptivos (centros de proyección* de Flechsig), destinados á recibir las impresiones de los sentidos para transformarlas en percepciones; y 2.°, *centros conmemorativos,* llamados también de *asociación* por Flechsig, desprovistos de relaciones directas con los órganos sensoriales, pero cuyas fibras aferentes proceden de los *centros perceptivos.*

Los *centros cerebrales perceptivos,* bien conocidos hoy, son: el *visual,* situado en la cara interna del lóbulo occipital, en los labios y fondo de la *fisura calcarina* é inmediaciones; el *sensitivo-motor,* localizado en la circunvolución frontal ascendente y regiones vecinas del lóbulo frontal; el *acústico,* emplazado en la primera circunvolución esfenoidal y hueco de la cisura de Silvio, y el *olfativo,* situado en la circunvolución del hipocampo (lóbulo piriforme de los pequeños mamíferos).

Los *centros de asociación ó conmemorativos* ocupan las regiones intermediarias á los centros perceptivos, abarcando en el hombre la mayor parte de la corteza. Su número y especificación fisiológica distan mucho de haberse puntualizado. A juzgar por lo que sabemos de los pocos focos de este género hoy bien localizados (centro motor del lenguaje, centro visual de las palabras, centro de las imágenes auditivas de éstas, etc.), los focos asociativos se distinguen entre sí, en lo fisiológico, por la calidad sensorial de las imágenes en ellos registradas (hay focos asociativos ó conmemorativos visuales, acústicos, etc.), y en lo

anatómico, por recibir vías aferentes del centro perceptivo de que dependen.

Los centros perceptivos, como los conmemorativos, poseen, según dejamos apuntado, textura especial perceptible hasta en los preparados del carmín y de Nissl, según adivinó ya hace tiempo Meynert y han demostrado recientemente Hammarberg, nosotros, Schaper, Vogt, Brodmann, etc. Tales diferencias estructurales acentúanse notablemente en los preparados de Golgi y neurofibrillares, y se corroboran, además, apelando á los métodos *mielogenético* de Flechsig y *mielo-arquitectónico* usado modernamente por diversos autores.

El carácter elemental de esta obra nos veda entrar en detalles relativos á la organización de las cortezas regionales.

CAPÍTULO XXVII

GANGLIOS SIMPÁTICOS

Llámanse *ganglios simpáticos* á las masas grises yacentes en los puntos nodales de los dos grandes nervios simpáticos, nervios extendidos en forma de cadena á lo largo del raquis y por delante y los lados de los cuerpos de las vértebras. Como focos simpáticos se consideran tembién todas las intumescencias grises, mostradas por los plexos viscerales *(plexo solar, hipogástrico,* etc.), y por las ramas y trayecto periférico de ciertos nervios craneales. Por ejemplo: pertenecen al tipo estructural simpático el *ganglio oftálmico,* el *esfeno-palatino*, el *ótico,* los *ganglios cardíacos*, los de Auerbach del intestino, etc.

En cada ganglio simpático hay que distinguir tres factores: las *células nerviosas*, los *nervios eferentes ó fibras de Remak* y las *fibras aferentes ó de origen central.*

Células nerviosas. — Hállanse esparcidas irregularmente por todo el ganglio, constituyendo conglomerados separados por plexos de fibras nerviosas. Estas se concentran especialmente hacia el centro y cabos ganglionares, de modo que, como en los focos sensitivos de los nervios raquídeos, la región periférica del foco es más rica en células que la central (fig. 414, A).

Las neuronas simpáticas son multipolares, como los corpúsculos motores de la médula espinal y poseen talla gigantesca, aunque variable, oscilando entre 50 y 80 μ. Tocante á su estructura, aseméjanse á las neuronas sensitivas, presentando, como éstas: núcleo voluminoso provisto de un nucleolo edificado de cromosomas esféricos; red neurofibrillar protoplásmica, más fina y complicada y menos afine de ordinario de la plata coloidal que la de sus congéneres motrices de la médula; y, en fin, un espon-

gioplasma sembrado de menudos granos cromáticos ó de Nissl. En torno del protoplasma aparece delgada cápsula constituída por sutil membrana conectiva, interiormente bordeada de células capsulares que recuerdan los endotelios. En ciertos tipos morfológicos del simpático humano, encuéntranse también entre la cápsula y la célula numerosos *elementos satélites* (fig. 415, B).

Fig. 413.—Células simpáticas del ganglio cervical superior del perro adulto.—A, B, tipo de largas dendritas; C, axon; D, tipo de dendritas cortas; G, célula cuyas dendritas forman nidos pericelulares.

Las expansiones celulares son numerosas, oscilando, por lo común, entre 4 y 10. Cuando no se había aplicado al estudio de las células simpáticas otro método que la disociación, creíase que todas las prolongaciones tenían carácter de nerviosas y se continuaban con fibras de Remak. La aplicación del proceder de Golgi (impregnación doble) á los ganglios simpáticos del perro y á los de embriones de ave, nos ha permitido refutar esta opinión, conduciéndonos á identificar en lo morfológico las células simpáticas con las del eje cerebro-raquídeo. Después de algunas vacilaciones, logramos demostrar que toda célula simpática po-

see dos clases de expansiones: *protoplásmicas* ó cortas, ramificadas repetidamente y terminadas libremente en el espesor del ganglio, y una *expansión nerviosa*, gruesa, lisa, que sale del ganglio simpático, continuándose con una fibra de Remak. Du-

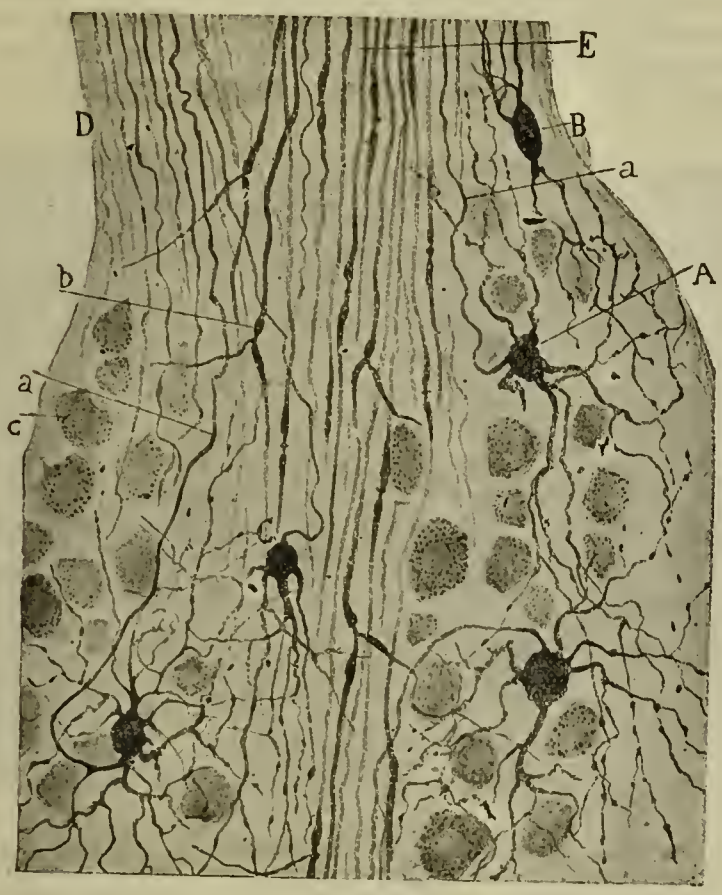

Fig. 414. — Células del ganglio cervical superior del gato. Método de Ehrlich.—A, B, C, células nerviosas simpáticas; *a*, axones; *b*, bifurcaciones de fibras motrices aferentes (motrices de primer orden); D, cordones comunicantes.

rante su trayecto intraganglionar esta prolongación no se ramifica, y al emerger del ganglio, sigue uno de estos dos caminos: ó se incorpora al par cerebro-raquídeo correspondiente para constituir los nervios llamados *rami comunicantes*, ó se dirige á su ganglio simpático vecino, formando los cordones anastomóticos de la cadena simpática (fig. 413, *c*, y 414, *a*).

Tal es, en general, la morfología de las neuronas de la cadena simpática de los mamíferos (ratón, conejo, gato, etc.). En el hombre, este mismo tipo multipolar predomina (fig. 415, C) tanto en la cadena del gran simpático prevertebral como en los gruesos ganglios viscerales. Pero nuestras investigaciones, efectuadas con el método del nitrato de plata reducido, enseñan que además del tipo dominante, los focos simpáticos humanos, y muy especialmente el *ganglio cervical superior* (especie de cerebro del sistema simpático), encierran estos tres tipos:

Fig. 415. — Células simpáticas del ganglio cervical superior del hombre adulto. Método del nitrato de plata reducido. — A, tipo con dendritas cortas dispuestas en corona; B, tipo cuyas dendritas subcapsulares se disponen en nido; C, tipo estrellado común.

a) *Célula en forma de corona y provista casi exclusivamente de dendritas cortas intracapsulares.* — La cápsula aparece muy amplia y apartada del contorno protoplásmico, y el espacio intermedio, lleno de plasma y de corpúsculos satélites, es recorrido por una infinidad de apéndices cortos, ramificados, divergentes, como dientes de rueda, y terminados por debajo de la membrana capsular. Los hay delgados y gruesos, cortos y largos, pudiendo estos últimos doblarse por debajo de la cápsula y engendrar en torno de la célula de que se originan ovillos complicados. El axon atraviesa la cápsula y se comporta como de ordinario (fig. 415, B).

b) *Célula en forma de cometa.* — Se asemeja al tipo precedente ó de dendritas subcapsulares, del que difiere por ofrecer la cápsula una prolongación en forma de zurrón, de cuya punta suele emerger el axon, y en ocasiones alguna dendrita larga. El espacio pericelular se muestra surcado de apéndices finos radiados, mientras que en el zurrón ó cola cometaria no concurren, disponiéndose en plexo complicado otros apéndices protoplasmáticos, más recios y largos y repetidamente ramificados. El tupido plexo subcapsular de recias dendritas así construído, toma el nombre de *glomérulo simpático* (fig. 416, B).

c) *Célula estrellada provista de apéndices largos y cortos.*— Semejante al tipo multipolar dominante, difiere de él en que, además de las expansiones dendríticas largas, posee otras breves, finas y divergentes que acaban libremente bajo la cápsula. En cuanto al axon, compórtase como en los demás tipos simpáticos (figura 415, A).

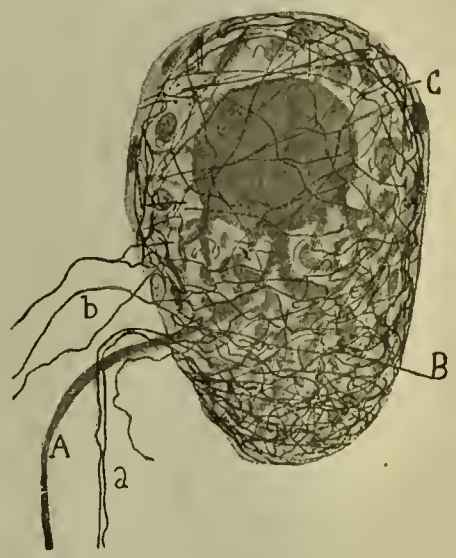

Fig. 416.—Célula en forma de cometa.— A, axon; B, glomérulo; *a*, fibras nerviosas aferentes; C, plexo nervioso subescapular.

Fibras eferentes.—Según dejamos consignado, los axones de las células simpáticas se cubren de una membrana nucleada para constituir las *fibras de Remak;* circulan después, reunidas en manojos, por entre las neuronas del ganglio, y emergen, por fin de éste, convertidos en nervios del gran simpático. El trayecto seguido por tales fibras es variable y ha motivado la distinción en estas tres categorías: 1.ª, *rami comunicantes*, compuestas por aquellas fibras simpáticas que, después de emerger del ganglio, se incorporan al par nervioso raquídeo inmediato, se dirigen con él á la periferia (fig. 417, *e*, *d*) y se distribuyen, en fin, en el sistema vascular (túnica media de las arterias y venas, músculos *arrectores pili*, etc.); 2.ª, *nervios viscerales*, es decir, cordones nerviosos brotados del ganglio y destinados á las vísceras torácico-abdominales y sus plexos nerviosos (plexo cardíaco,

solar, hipogástrico, etc.); 3.ª, *cordones anastomóticos ó de unión*, formados principal, aunque no exclusivamente, por axones simpáticos que, nacidos en un ganglio, marchan en sentido

Fig. 417.— Células de un ganglio cervical simpático del embrión de pollo.— A, raíz motriz de la médula que cruza el ganglio; *a*, *b*, *c*, células simpáticas; *g*, *h*, ramificaciones terminales de fibras de paso, probablemente llegadas de la médula espinal (motrices de primer orden); B, cordón longitudinal que junta entre sí los focos simpáticos.

longitudinal á lo largo y por el eje de los focos vecinos, para emerger, por fin, incorporados á los *rami comunicantes* ó á nervios viscerales, á distancia más ó menos considerable del ganglio

de origen, después de haber suministrado algunas colaterales durante su tránsito por los focos atravesados (fig. 417, *a* y *b*, y fig. 421, *c*).

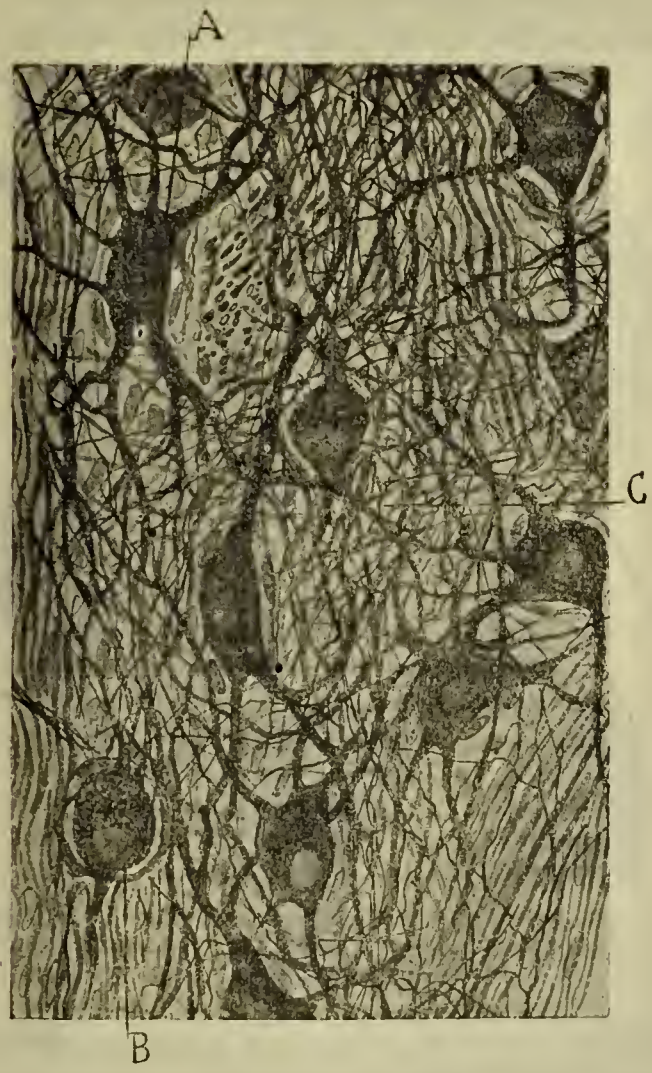

Fig. 418.—Células simpáticas comunes del caballo normal (ganglio cervical superior).— A, células estrelladas; B, corpúsculo con granos de pigmento; C, plexo intersticial de fibras nerviosas y dendritas.

Todos estos nervios tienen como principal campo de distribución los músculos de fibra lisa del árbol sanguíneo, los de los conductos excretores de las glándulas, y, en fin, los de las recias túnicas del intestino. Acaso tales fibras nerviosas se ponen también en relación directa con las células glandulares, aunque bien

podría suceder que entren en contacto con las neuronas de los ganglios viscerales de que procederían los nervios propiamente glandulares (fig. 421, *c*, *f*).

Fibras nerviosas aferentes ó de origen medular. — Entre las células simpáticas de los ganglios, existe un plexo nervioso complejo, descubierto por nosotros y mejor descrito por Fusari y van Gehuchten, en donde colaboran tres categorías de fibras:

Fig. 419. — Ovillos nerviosos pericelulares de una neurona simpática humana. — *a*, fibras aferentes; *b*, mazas finales; *c*, plexo pericelular; *d*, rama destinada á serpentear por las dendritas.

a) colaterales emanadas de axones longitudinades de paso y amedulados, cuyas células de origen yacen en ganglios inmediatos; *b)* ramas colaterales y terminales brotadas de fibras meduladas de paso, pero llegadas de la médula espinal con los *rami communicantes* destinados á ganglios vecinos; y *c)* ramas colaterales y terminales suministradas por fibras meduladas directas, es decir, procedentes de la médula espinal y llegadas con los *rami communicantes* más próximos.

Todas estas fibras meduladas tienen sus células de origen en

el asta anterior de la médula espinal y en focos no bien conocidos aún del bulbo raquídeo. Su terminación en los ganglios simpáticos efectúase á favor de plexos difusos en contacto con las dendritas, á lo largo de las cuales corren las ramas nerviosas más finas. Menos frecuentemente se disponen en nidos nerviosos situados en torno de las células.

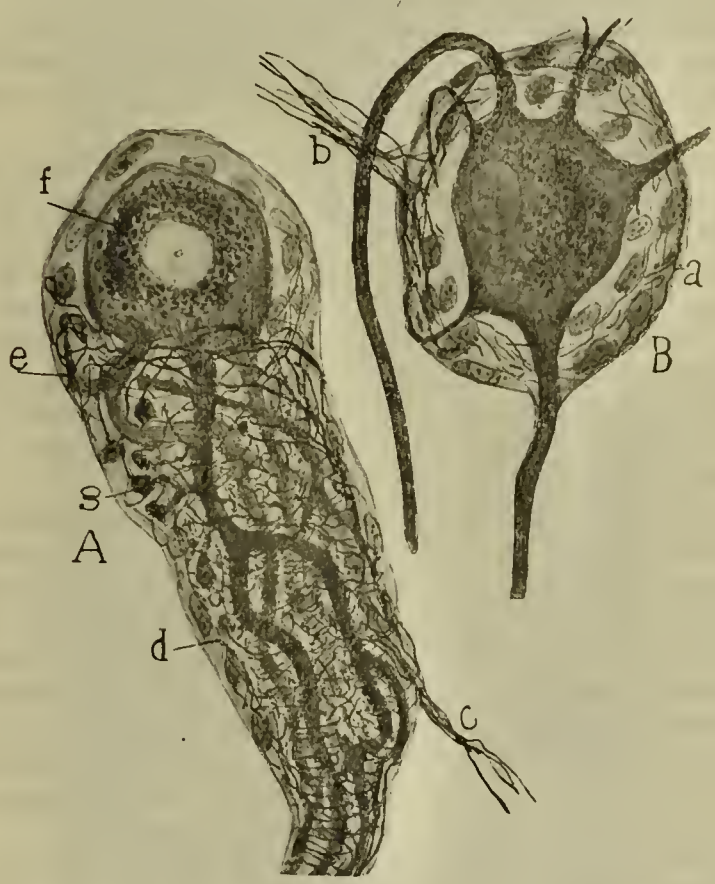

Fig. 420.—Corpúsculos simpáticos de un caballo viejo.—A, tipo cometario con nidos; B, tipo estrellado con nido pericelular; *c*, fibras aferentes; *d*, cápsula; *g*, bulbos y mazas terminales de ciertos apéndices dendríticos finos.

Nuestras investigaciones en los ganglios simpáticos humanos, teñidos con el proceder del nitrato de plata reducido, han revelado, no sólo los plexos nerviosos intersticiales antes indicados, sino ciertos ovillos perineuronales complicados, cuyas fibras acaban á menudo en bolas ó mazas libres, enteramente semejantes á los abultamientos finales de las fibras nerviosas en vías de regeneración.

En las figuras 416, y 419, *c*, mostramos algunas especies de estos

singulares nidos terminales tomados de los ganglios simpáticos del hombre. Nótese que las dendritas son desde luego abordadas por fibras finas despojadas, después de muchas divisiones, de su vaina medular, y las cuales marchan hacia el soma trazando espiras, para desembocar al fin en el nido nervioso, donde se ramifican complicadamente y entran en contacto, tanto con el soma como con las cortas dendritas. En los tipos cometarios ó de zurrón glomerular, además del nido nervioso pericelular, se observa otro tupido plexo intraglomerular de gran complicación. Cada célula puede recibir, según mostramos en la figura 416, *a*, *b*, fibras nerviosas de diversas procedencias, que abordan el soma ó los glomérulos, según radios variados.

Los referidos ovillos hállanse, aunque muy rara vez, en los ganglios simpáticos del caballo, según mostramos en la figura 420, donde aparecen tanto la modalidad en forma de plexo prolongado (A) como la de pelotón perisomático (B). En el gato, perro y conejo no los hemos sorprendido nunca. Después de nosotros, han observado dichos ovillos: Marinesco, en la cadena general del hombre; Müller (1909), en los ganglios craneales humanos; G. Sala (1910), en el ganglio ciliar; Biondi, en el submaxilar; Pitzorno (1910), en el simpático de los quelonios; Lenhossék (1911), en el ganglio ciliar de las aves; Riquier, en el ganglio ótico del buey (1913), etc.

Los referidos ovillos nerviosos, ¿son disposiciones normales ó patológicas? Teniendo en cuenta la gran semejanza que ofrecen con los pelotones formados accidentalmente en torno de las neuronas sensitivas trasplantadas, Nageotte opina resueltamente en favor de su naturaleza morbosa. En su sentir, trataríase de fibras ó retoños de regeneración nacidos en neuronas del mismo ganglio y atraídas por los elementos capsulares, en torno de los que describirían revueltas complicadas. La presencia de bolas finales (fig. 419, *b*), la falta frecuente de contacto del nido con la célula y la accidentalidad de su presencia son hechos muy favorables á esta hipótesis.

En nuestro sentir, Nageotte tiene razón en principio: los ovillos constituyen formas accidentales que no parecen satisfacer ningún papel fisiológico; creemos, empero, que las neuronas de que provienen no son simpáticas, sino raquídeas. El nido representaría quizás una producción anormal y exuberante del plexo nervioso terminal fisiológico (fibras motrices llegadas con las raíces anteriores), vegetación atípica que obedecería á estímulos hoy por hoy indeterminados (¿toxinas intestinales, aumento en el poder secretor y atrayente de la cápsula pericelular?).

Resulta de lo expuesto que el gran simpático no es un centro absolutamente autónomo, puesto que, según acabamos de ver, se

halla subordinado á los impulsos recibidos de la médula espinal. Estas fibras de origen *cerebro-raquídeo* y que deben estimarse

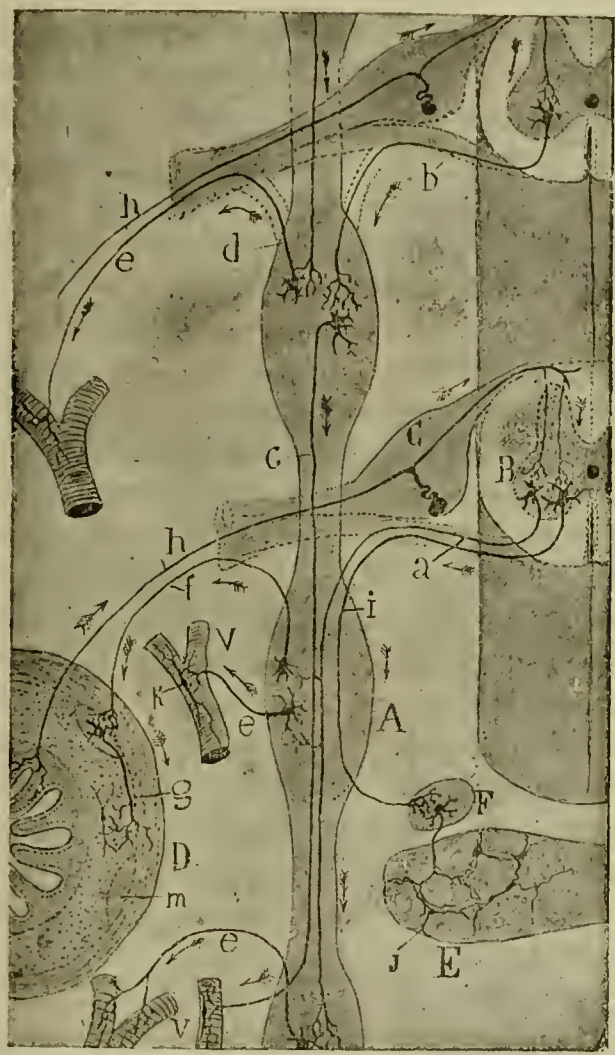

Fig. 421. — Esquema de la estructura y conexiones del gran simpático. — A, ganglio simpático; B, asta anterior de la médula espinal; C, ganglio sensitivo; D, intestino; E, una glándula; *a*, fibra motriz de primer orden terminada en varios ganglios; *b*, otra terminada en un ganglio; *c*, fibra de segundo orden, constitutiva de la comisura longitudinal; *d*, fibra de la misma clase incorporada á los *rami communicantes*; *e*, fibras destinadas á las arterias, etc.

como las *raíces del gran simpático,* han sido designadas por Kölliker *fibras motrices de primer orden,* á fin de diferenciarlas de las fibras de Remak ó conductores nacidos en los mismos

focos simpáticos, los cuales se denominan *fibras motrices de segundo orden.*

En la figura 421 mostramos el conjunto de las conexiones de varios ganglios simpáticos con sus raíces en la médula espinal *(a, b)* y sus ramas viscerales *(e, d)*. En esta figura demostramos cómo, tanto las fibras venidas de la médula como las nacidas en los ganglios, pueden, antes de formar su arborización terminal, marchar longitudinalmente al través de uno ó más focos nerviosos, entrando en conexión con numerosas neuronas *(a, c)*.

Ganglios simpáticos viscerales. — Textura análoga poseen los ganglios simpáticos yacentes cerca de las vísceras, dentro de los complicados plexos de las cavidades torácica y abdominal, tales como: los *focos semilunares del plexo solar,* los *ganglios del plexo hipogástrico,* los *focos cardíacos y glandulares,* etc. En todos ellos domina la célula multipolar típica, sin que falte la modalidad en rueda dentada y la en forma de cometa, y se reparten fibras medulares. Los nidos pericelulares son también complicados y ricos. En estos últimos años (1908), las investigaciones de Michailoff han probado que en los ganglios cardíacos, en los vesicales, etc., existen, además del tipo multipolar, otras categorías neuronales, que recuerdan mucho los elementos provistos de cortas dendritas descritos por nosotros en el gran simpático humano. Entre otros, habitaría un corpúsculo cuyos apéndices, verrugosos y anchos, darían á la neurona el aspecto de una rueda de paletas. De los plexos y ganglios intestinales trataremos más adelante. En fin, células en forma de *rueda dentada* han sido observadas también por Müller, G. Sala (1910), Biondi (1913) en los ganglios simpáticos craneales. Parecen residir hasta en el simpático de vertebrados inferiores, donde Pitzorno (1810) ha sorprendido también (quelonios y selacios) el tipo *cometario* señalado por nosotros en el simpático humano.

CAPÍTULO XXVIII

CARACTERES QUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL TEJIDO NERVIOSO — NEUROGENESIS

Caracteres químicos del tejido nervioso. — El análisis de la médula y encéfalo dan una composición inmediata de gran complicación. Figuran en la substancia gris y blanca la *albúmina*, la *lecitina*, el *protagón*, la *colesterina*, la *cerebrina*, la *neurina*, el *ácido glicero-fosfórico* y numerosos compuestos inorgánicos, como el *fosfato de potasa*, el de *sosa*, el de *hierro* y el *de magnesia*, el *cloruro de sodio*, el *sulfato potásico* y el *ácido fosfórico libre*. La *cerebrina* y *colesterina* abundan especialmente en la substancia blanca, y la *lecitina* en là gris. Ewald y Kühne han hallado además un nuevo producto llamado *neuro-keratina*, caracterizado por resistir á la digestión artificial y parecerse notablemente á la keratina de los epitelios.

Propiedades fisiológicas del tejido nervioso. — La propiedad específica del tejido nervioso es la capacidad de transmitir, bajo una forma todavía desconocida, los cambios dinámicos ocurridos ora en los órganos de los sentidos, ya en los centros nerviosos. Desde el punto de vista del origen del movimiento cabe distinguir tres sistemas nerviosos: el *sensorial* ó *sensitivo-sensorial,* por virtud del cual toda mutación ocurrida en la periferia de nuestro organismo ó en el interior de nuestros músculos es propagada al sensorio; el *motor* ó *centrífugo,* representado por los nervios motores y glandulares, cuya misión es conducir á los órganos subordinados (músculos, glándulas) las excitaciones generadas en los centros; y el *sistema intermediario* ó de asociación, representado por una gran parte de las células del encéfalo y médula (exceptuadas las vías sensitivas y motrices directas), y cuyo oficio parece ser poner en re-

lación las fibras aportadoras de excitaciones sensitivo-sensoriales con determinados focos provistos de conductores centrífugos ó motores.

En los nervios, el papel transmisor está representado por el cilindro-eje; las demás partes constitutivas del tubo nervioso desempeñan oficios de nutrición ó de protección. Así, la mielina sirve verosímilmente de materia aisladora de la corriente nerviosa; la vaina de Schwann semeja un aparato protector de la fibra y contentor de la mielina; los discos de soldadura aprovechan para mantener el cilindro-eje en su posición central y dar acceso á las corrientes de imbibición; las cisuras de Lantermann parecen desempeñar este mismo papel, facilitando, por su permeabilidad á los plasmas nutritivos, la fácil renovación del líquido que baña el conductor nervioso.

No entraremos en el estudio del mecanismo del acto reflejo ni de las propiedades eléctricas y fisiológicas del tejido nervioso, cuestiones muy importantes que fuera inoportuno abordar aquí, dada la concisión que nos hemos impuesto, y que además pertenecen de derecho á la fisiología. Por ahora expondremos solamente algunas de las inducciones fisiológicas más verosímiles derivadas de los recientes estudios sobre la morfología y conexiones de las células nerviosas.

1.° Las corrientes nerviosas no marchan en sentido indiferente al través de las células; en las células multipolares de los centros el cilindro-eje es recorrido siempre por un movimiento *celulífugo* y las expansiones protoplásmicas por un movimiento *celulípeto;* ó en otros términos, las expansiones protoplásmicas y cuerpo celular recogen las corrientes y el cilindro-eje las transmite á otros corpúsculos (Cajal, van Gehuchten).

2.° Esta ley fisiológica se cumple también en las células monopolares y bipolares. Así, en las células bipolares (acústicas, olfatorias, retinianas, bipolares sensitivas de los vermes, según Lenhossék y Retzius, bipolares sensitivas de los ganglios espinales de los peces, etc.), la expansión periférica suele ser gruesa y debe considerarse como de significación protoplásmica, pues está destinada á recoger las corrientes (movimiento celulípeto). En las células unipolares de los ganglios espinales de los batra-

cios, reptiles, aves y mamíferos, la expansión periférica del brazo único puede estimarse como rama protoplásmica ú órgano de transmisión celulípeta, y la central, más fina, como fibra nerviosa ú órgano de transmisión celulífuga. El tallo que soporta las dos expansiones no existía en la época embrionaria, formándose por estiramiento del cuerpo celular.

3.° La relación entre los elementos nerviosos de los centros se verifica por contacto ó articulación entre arborizaciones nerviosas, de una parte, y el cuerpo celular y expansiones protoplásmicas, de otra. El movimiento nervioso se transmite, pues, del cilindro-eje de una célula á las expansiones protoplásmicas de otra.

En los casos en que el axon nace de una expansión protoplásmica, á gran distancia del soma, la fórmula citada no puede aplicarse en todo su rigor; por esta razón nosotros hemos modificado la antigua ley, demasiado exclusiva, por esta otra, aplicable á todos los casos sin excepción: *el soma y apéndices protoplásmicos tienen conducción axípeta,* es decir, que conducen siempre hacia el axon ó expansión funcional; *en tanto que el axon posee conducción dendrífuga ó somatófuga* (según su punto de emergencia), es decir, que la onda por él circulante puede llegar indiferentemente, ora del soma, ora de una prolongación dendrítica. La dislocación del axon en muchas células (corpúsculos monopolares raquídeos, granos del cerebelo, células de cayado del lóbulo óptico, etc.), así como las disposiciones singulares adoptadas, tanto por las ramificaciones nerviosas como por las dendríticas, están regidas por las tres leyes económicas siguientes: ahorro del espacio destinado á las células, ahorro de materia de los conductores y ahorro de tiempo de conducción (1).

4.° La morfología de la célula nerviosa es independiente de su volumen y calidad fisiológica (motora, sensitiva, etc.), y parece guardar relación con el número y situación de las arborizaciones que la rodean. Así, las células desprovistas de expansiones protoplásmicas directas (células ganglionares sensitivas) ó que ofrecen un solo tallo de aspecto protoplásmico (muchos espongioblastos retinianos), sólo se relacionan con una ó dos espe-

(1) Para más detalles sobre este punto, consúltese nuestro artículo «Leyes de la morfología de las células nerviosas». *Revista trimestral micrográfica*, núm. 1, 1897.

cies de fibras nerviosas terminales. En cambio, las células de la médula espinal, cerebro y cerebelo, ricas en apéndices protoplásmicos, reciben la influencia de numerosas fibrillas nerviosas aferentes.

5.° El alargamiento radial de las pirámides cerebrales y la diferenciación de las prolongaciones protoplásmicas en basales, somáticas laterales, colaterales del tallo y penacho terminal, parecen tener por objeto mantener conexiones bien separadas con fibrillas nerviosas terminales de origen diverso, las cuales, por lo común, se arborizan en pisos distintos de la corteza cerebral.

6.° El movimiento nervioso puede comenzar en una sola célula periférica, por ejemplo, en un cono de la foseta central de la retina, en una célula ciliada acústica, etc.; pero en cuanto es transmitido á los centros, el número de células nerviosas que intervienen en su propagación crece en avalancha, por cuanto las arborizaciones centrales de cada cilindro-eje tocan al cuerpo y expansiones de un gran número de elementos ganglionares; por donde resulta muy verosímil que, en el trabajo cerebral, la representación ó la percepción sensorial más sencilla, visual, táctil, acústica, etc., sea una resultante de la actividad de miles de células nerviosas (1).

7.° Las células neuróglicas quizás sirven, como ha indicado mi hermano, no sólo de sustentáculo á las células y fibras, sino, muy especialmente, de medio aislador de los conductores nerviosos. Los modernos trabajos de Nageotte, Mawas, Fieand, Achúcarro (1913) y nosotros (1914) prestan verosimilitud á la opinión de que la *glía* de la substancia gris, rica en granos mitocondriales, posee además capacidad secretoria, elaborando algún fermento indispensable al mantenimiento de la actividad normal de los centros nerviosos.

8.° Las diversas partes constitutivas del protoplasma nervioso desempeñan papeles fisiológicos diferentes. Y aunque sobre este punto sólo conjeturas cabe formular, tenemos por verosímil:

(1) Según resulta de los cálculos de los fisiólogos, la velocidad de transmisión de la corriente nerviosa es de unos 30 metros por segundo. Este movimiento sería oscilatorio, pero de una naturaleza especial, con una longitud de onda de unos 18 milímetros.

a, que las *inclusiones basiófilas* ó grumos de Nissl constituyen una substancia de reserva necesaria á la nutrición celular; *b,* que el jugo celular ó neuroplasma, tan abundante en las terminaciones nerviosas como en las espinas y extremidades de las dendritas, es vehículo principal, si no exclusivo, de la propagación de la onda nerviosa; *c,* que la membrana finísima no es obstáculo á esta propagación, siendo más ó menos conductora; y *d,* en fin, que las neurofibrillas representan una substancia específica probablemente no conductora (Wolff), especie de material energético susceptible de gastarse durante la actividad nerviosa y or-

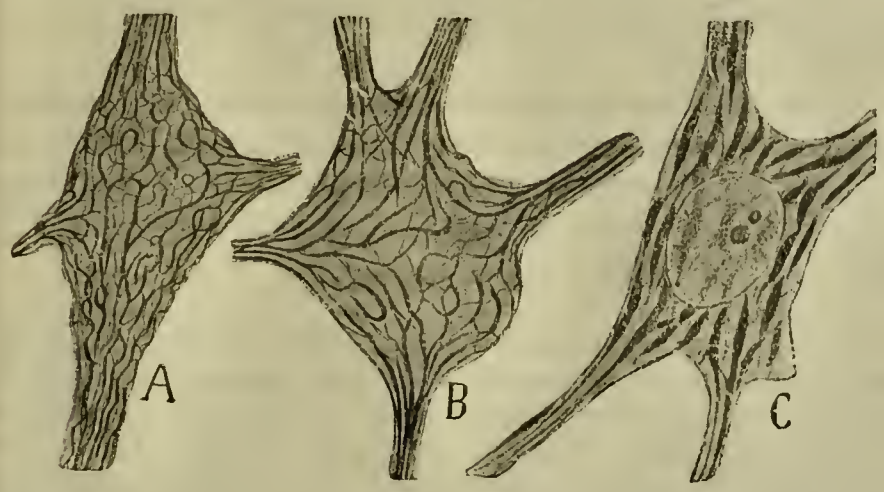

Fig. 422. — Células de la médula espinal de un conejo de una semana, mantenido, por un dia, á 10°.—A, célula en que comienza la hipertrofia neurofibrillar; B y C, células en que se forman espesamientos fusiformes.

ganizado en trabéculas paralelas á las corrientes, á fin de no crear obstáculos á la transmisión. Todo ello sin perjuicio del papel morfogénico (esqueleto constructor y mantenedor de las expansiones) otorgado á dichas hebras por algunos autores.

9.° Los trabajos nuestros y de Tello, confirmados por Marinesco, Donaggio, Dustin, Rebizzi, Paolo (1908 á 1910), efectuados con métodos capaces de colorear las neurofibrillas, prueban que estas hebras se modifican en su situación y diámetro, según la temperatura ambiente y el estado de aletargamiento y de excitación del animal. Así, en el lagarto entorpecido por el frío, las neurofibrillas se adhieren entre sí, generando colosales cordones y formándose grandes espacios intercordonales vacíos,

mientras que, puesto el animal en estufa, ó llegada la primavera, dichos cordones se resuelven en finísimos hilos y los citados espacios desaparecen. Mutaciones semejantes suscitan en las células nerviosas de los mamíferos la acción del frío y ciertas enfermedades (rabia, anemia, etc.). En la infección rábica, sobre todo, resulta muy característica la hipertrofia neurofibrillar, pudiendo servir en los casos dudosos para el diagnóstico de la enfermedad (Cajal y Dalmacio García, Marinesco, Achúcarro, etcétera).

En la figura 222 mostramos las singulares metamorfosis de las neurofibrillas del conejo joven, sometido, durante un día, á baja temperatura.

Tan sensibles son las neurofibrillas á la acción de la temperatura, que con sólo que se prolongue algo la agonía de un animal y descienda lentamente la temperatura, cambia ya la disposición de las neurofibrillas superficiales (animales que mueren de infecciones con hipotermia terminal).

Ciertos autores, como Apathy, Bethe (1901) y Held (1906), profesan la opinión de que las neurofibrillas constituyen el único aparato conductor de la célula nerviosa; el núcleo y el protoplasma vendrían á representar órganos puramente nutritivos, sin capacidad para crear ni transmitir las corrientes. Como quiera que semejante concepción pugna con los conocimientos que poseemos acerca de la independencia de las neuronas, los citados autores admiten conjeturalmente que las neurofibrillas pueden abandonar el soma celular y generar en la substancia gris redes continuas en las cuales desembocarían las últimas ramificaciones nerviosas. También la *red pericelular* de Golgi, que, según éste y todos los observadores imparciales, constituiría una disposición totalmente extraña á la conducción nerviosa, vendría á ser para Bethe un punto de encuentro y fusión entre neurofibrillas intrasomáticas y extrasomáticas ó provenientes de las últimas ramificaciones de las fibras nerviosas aferentes.

Excusado es decir que semejante aseveración es pura conjetura que ningún neurólogo ha logrado demostrar, aun valiéndose del mismo método de Bethe (nosotros mismos no hemos conseguido percibir dichas comunicaciones reticuladas en preparados enviados por el autor). En efecto, cuantos sabios han aplicado, en estos últimos años, al argumento procederes susceptibles de teñir selectivamente las neurofibrillas, están de acuerdo en rechazar las susodichas redes neurofibrillares supuestas en la substancia gris ó en torno de la cé-

lula (Donaggio, Auerbach, nosotros, Tello, van Gehuchten, Held, Marinesco, Lenhossék, Azoulay, Holmgren, Nageotte, etc.).

No es posible aceptar, por tanto, la doctrina de la conductibilidad exclusiva de las neurofibrillas. Puesto que no emergen del cuerpo celular para continuarse con las arborizaciones nerviosas perisomáticas ni abandonan jamás el interior de las dendritas, no hay más remedio que atribuir al neuroplasma y membrana de cubierta de la célula nerviosa aptitud conductriz, á menos que no se prefiera (en la suposición de la inconductibilidad de la membrana) imaginar una acción inductriz ó á distancia, algo así como reacción química recíproca, generadora de energía nerviosa, durante el paso de la onda por los dos neuroplasmas contiguos de la articulación neuronal.

Varios autores, Wolff, Schefferdecker, atribuyen al neuroplasma la función conductiva. Otros, como Koltzoff (1906), abundando en esta opinión, añaden que las neurofibrillas constituyen simple armazón destinado á mantener la morfología neuronal; dictamen de que no dista mucho Lenhossék (1910), cuando les otorga actividad casi exclusivamente morfo-genética (por su impulsión y crecimiento en determinada dirección durante la época embrionaria, crearían las expansiones y fijarían la forma específica neuronal). Con todo, conviene no exagerar esta concepción mecánica del retículo neurofibrillar, dado que numerosas observaciones han revelado procesos activos de creación y metamorfosis de dicho esqueleto en relación con estados fisiológicos y patológicos. En el llamado *fenómeno de Alzheimer* (demencia senil), la célula nerviosa entera puede desorganizarse, subsistiendo, empero, vivaces algunos haces neurofibrillares hipertróficos. Parecidos fenómenos de supervivencia neurofibrillar hemos notado nosotros en los axones separados de su centro trófico (heridas nerviosas y cerebrales).

Dejamos consignado que las neurofibrillas constan de bioblastos ó unidades ultramicroscópicas *(neurobionas)* susceptibles de nutrirse, generarse por fisiparidad y cambiar de posición, según los estados funcionales de la célula. Durante los fenómenos regenerativos de los nervios, dicha substancia aumenta notablemente en cantidad, disponiéndose en redes y generando hebras y anillos terminales.

DESARROLLO DEL TEJIDO NERVIOSO

Este tejido representa una diferenciación del *ectodermo* y su formación se inicia en el embrión del pollo á las veinticuatro horas de la incubación, bajo la forma de un surco de la hoja externa (surco primitivo), el cual, por fusión de sus bordes, no tarda en convertirse en conducto (fig. 127, *c, a*).

Semejante conducto representa la cavidad del epéndimo; sus paredes, construídas de células epiteliales ectodérmicas, forman la médula y el encéfalo primordiales.

Las *fases iniciales* del desarrollo del tejido nervioso han sido bien estudiadas por W. His en la médula espinal. Según este embriólogo, ya desde la fase de surco primitivo el epitelio ectodérmico destinado á engendrar la médula consta de dos clases de células: *elementos epiteliales,* de figura alargada, extendidos desde el epéndimo hasta la superficie ectodérmica, y *células germinales* de forma esférica, situadas cerca de la cavidad ó surco medular y caracterizadas por sus frecuentes mitosis.

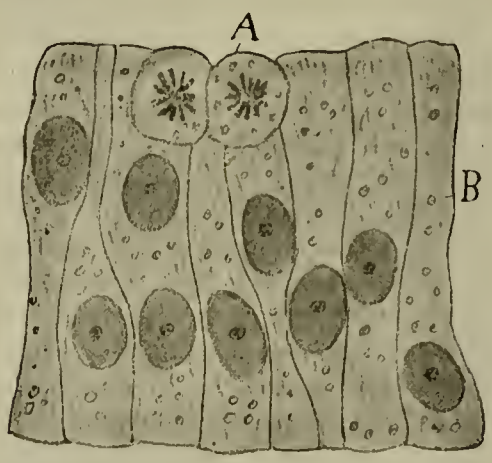

Fig. 423.—Pared del canal neural del embrión de pollo de veinticuatro horas. — A, célula germinal en vías de mitosis; B, célula epitelial primitiva.

Evolución de las células germinales. — Estos corpúsculos, punto de partida de las células nerviosas, pasan por las siguientes fases: *fase germinativa, fase apolar, fase bipolar, fase unipolar ó neuroblasto de His* y *fase de célula nerviosa joven* ó de *elemento multipolar*. Tales fases se refieren principalmente á los corpúsculos multipolares de los centros nerviosos y muy singularmente á la médula espinal.

1. *Célula germinativa* de His (fig. 423, A). — Afecta forma esférica ó poliédrica y se caracteriza por carecer de neurofibrillas y exhibir fases mitósicas. Su protoplasma, rico en granulaciones, exhibe, como las investigaciones de Meves (1909) y de Duesberg (1910) han probado (fig. 425, *c),* numerosas mitocondrias. Reside dicha célula en la proximidad de la cavidad ventricular, aunque en algunos centros (cerebro y cerebelo) se la ve emigrar hacia las regiones superficiales de la pared del tubo primitivo (fig. 424, A).

2. *Fase apolar* (*neuroblasto primitivo* de Held). Este estadio no corresponde á la *célula germinativa* de His, sino á un estado especial sobrevenido en este corpúsculo, cuando, habiendo acabado su multiplicación, comienza á emigrar y prepara la edificación de un armazón neurofibrillar.

El protoplasma, antes regularmente repartido, acumúlase especialmente en el polo protoplásmico periférico, polo en el cual, como Held ha señalado y hemos comprobado nosotros (1908), se inicia el armazón neurofibrillar. Las primeras neurofibrillas son gruesas y flexuosas, y extiéndense desde el centro de producción (*zona fibrillógena* de Held) á todo el resto protoplásmico.

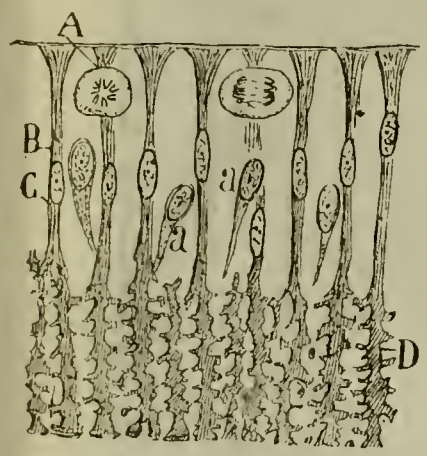

Fig. 424.—Pared del conducto neural de un embrión de mamífero (según His). — A, células germinales; B, espongioblasto ó célula epitelial; *a*, neuroblasto; D, retículo formado, según His, por los apéndices de las células epitélicas.

Fig. 425. — Condriomitos de la pared del surco medular (esbozo del sistema nervioso) del embrión de pollo, á las veinte horas de la incubación. — *a*, condriomitos de un corpúsculo epitelial; *b*, los de una célula mesodérmica; *c*, los de un corpúsculo nervioso en fase germinal ó mitósica (según Meves).

3. *Célula bipolar.* — Indicada por nosotros hace muchos años como estado intermediario entre la fase bipolar y monopolar, ha sido modernamente comprobada por Besta (1904), Held (1906) y otros autores (fig. 426, *a, b*). No es absolutamente constante,

pero constituye una fase bastante común en la evolución de las células nerviosas de la médula, cerebro y retina. Consiste en la producción, á expensas del armazón neurofibrillar, de dos expansiones radiales: una *interna,* generalmente delgada y que

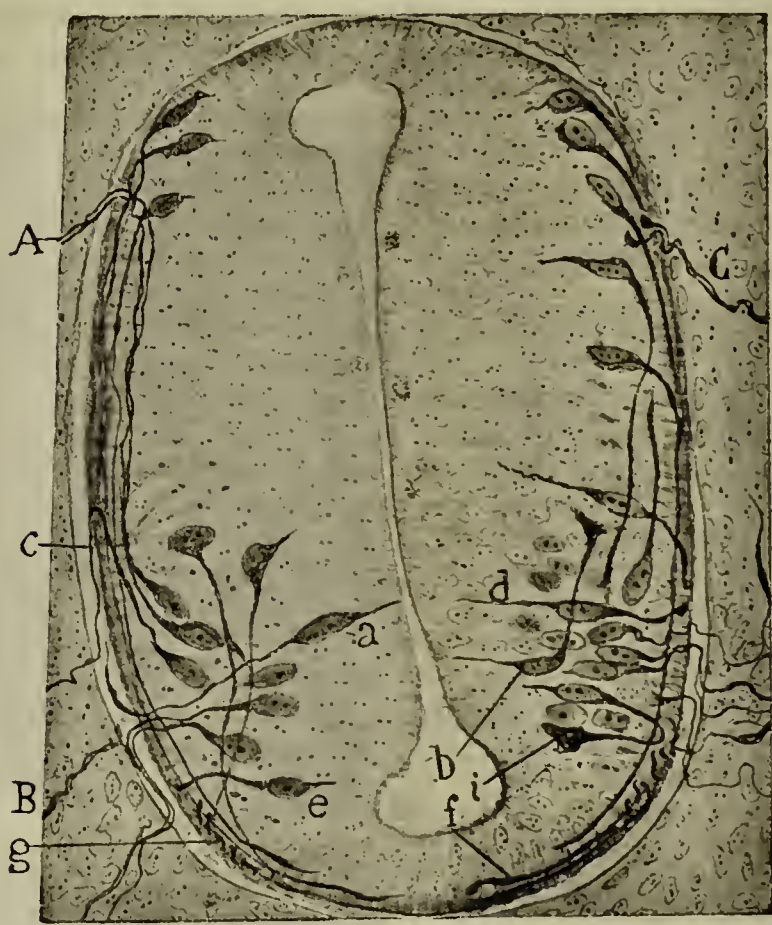

Fig. 426. — Corte de la médula espinal del embrión de pollo á las cincuenta y seis horas de la incubación; A, C, raíces posteriores; B, raíz anterior; *a*, *c*, *d*, células nerviosas en fase bipolar; *e*, célula cuya expansión interna se atrofia para convertirse en corpúsculo monopolar; *f*; *i*, conos de crecimiento; *g*, primeras fibras de la substancia blanca.

sucesivamente se acorta por reabsorción, y otra *externa,* más gruesa, que, al revés de la precedente, crece progresivamente hacia la periferia, terminando por una excrecencia, esbozo de la futura maza ó cono de crecimiento. Durante la fase bipolar, las células nerviosas han emigrado hacia la periferia, yaciendo en

la médula espinal, en un territorio intermedio entre el ocupado por las células germinales y aquél en donde yacen los corpúsculos monopolares. Hay, sin embargo, excepciones.

4. *Célula monopolar.* — Correspondiente al *neuroblasto* de His, resulta esta fase de la desaparición de la expansión interna

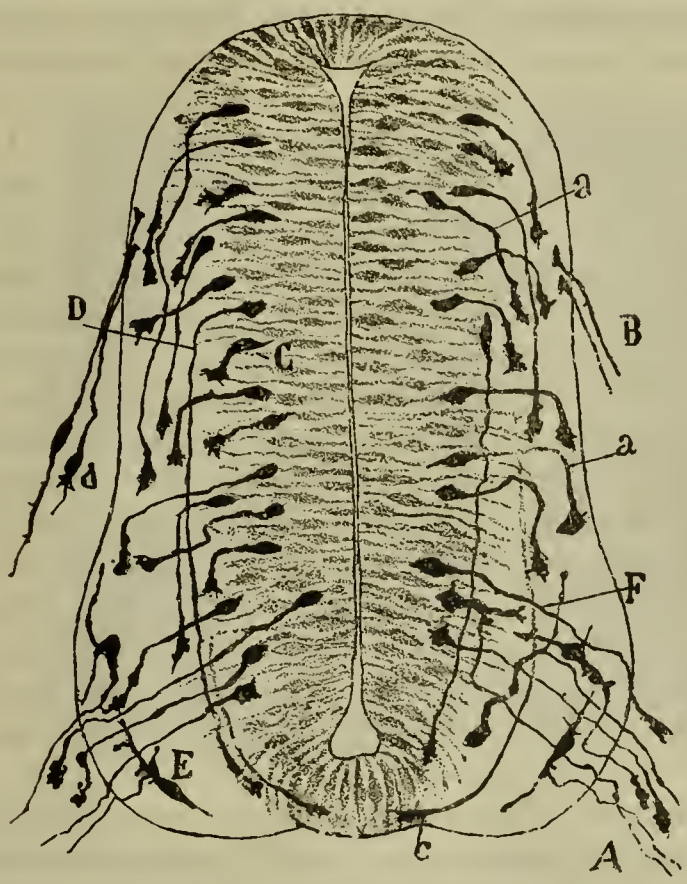

Fig. 427.—Corte de la médula espinal del embrión de pollo al tercer día de incubación.—A, raíz anterior; B, raíz posterior; *a*, conos de crecimiento; *d*, células sensitivas; E, célula motriz.

y del estiramiento y robustecimiento progresivos del apéndice principal ó externo que se convierte en el *axon primitivo* ó primordial (figs. 426 y 427, F).

Axon primordial y cono de crecimiento. — Durante la fase monopolar, queda fijada y estable la primera expansión neuronal, el *axon,* que parece formarse por el crecimiento y neofor-

mación de las neurofibrillas del polo celular periférico ó zona fibrillógena.

El haz neurofibrillar acaba mediante un ensanchamiento ligero, en forma unas veces de pincel, otras de grano de cebada, algunas de bastón ó maza más ó menos elipsoide. Este ensanchamiento terminal del axon primitivo, descubierto hace tiempo por nosotros (1890) en los embriones de pollo, y confirmado por numerosos autores (Lenhossék, Retzius, V. Gehuchten, P. Ramón, Athias, Sclavunos, etc.), que trabajaron con el método del cromato argéntico, se designa *cono de crecimiento*. La comparación de las preparaciones neurofibrillares con las del cromato de plata revela que el cono de crecimiento consta de dos factores principales: de un eje neurofibrillar, especie de pincel ó brocha de hilos delicados; y de un neuroplasma abundante que se acumula hacia el cabo de la citada excrecencia (que es la base del cono), emitiendo numerosas crestas y cortos apéndices adaptados á los intersticios del tejido nervioso en evolución (figs. 427, *c*, y 428, *d*). Este neuroplasma es precisamente lo coloreado por el cromato de plata, circunstancia que explica por qué el volumen ofrecido por los conos de crecimiento en los preparados de Golgi es mayor que en los impregnados por el nitrato de plata reducido (fig. 428, *a, d,* F). Por lo demás, el *cono de crecimiento* ha sido también observado en vivo, por Harrison y sus discípulos, en los embriones de batracio (experimentos de cultivo artificial de trozos de médula espinal embrionaria).

En virtud de su amiboidismo y de su capacidad de crecimiento, el citado cono emigra por entre los corpúsculos epitélicos de la médula primitiva, cuya disposición radiada favorece la marcha hacia la periferia; sortea los obstáculos incesantes que se ofrecen en su camino, y llegado á la periferia medular por debajo de la basal externa, compórtase de estas dos maneras: unas veces, después de chocar contra la basal, deslízase por debajo de ésta, cambiando de dirección y constituyendo el rudimento de una fibra de asociación (células funiculares y comisurales); otras veces, insistiendo en su movimiento de propulsión radial, logra barrenar la membrana basal externa, invade los territorios mesodérmicos y se convierte en fibra motriz (cé-

lulas motrices ó de las raíces anteriores) (figs. 428, E, F, D, y 427, A).

Durante su tránsito por el tejido conectivo embrionario, el cono de crecimiento aprovecha los intersticios intercelulares, sin penetrar jamás, como pretende Held, dentro de los protoplasmas; se bifurca á menudo (fig. 428, D) y, en fin, se transforma llegado al miotomo, término del viaje, en una arborización terminal motriz, varicosa y rudimentaria.

Fig. 428. — Trozo de médula espinal de un embrión de pato á las setenta y dos horas de la incubación. Nitrato de plata reducido. — A, médula espinal; B, espacio perimedular; C, tejido mesodérmico; E, F, conos de crecimiento en vías de emigración; D, cono extraviado; *a*, *b*, *d*, conos que pugnan por atravesar la membrana basal externa.

5. *Fase de la célula nerviosa joven ó célula multipolar.* — En la fase anterior, el cuerpo del neuroblasto se muestra desnudo, piriforme, y el cilindro-eje carece de colaterales (figs. 428 y 429). Mas luego, ora en el cuerpo celular, ora en el arranque del cilindro-eje, brotan una ó varias expansiones espinosas, cortas, groseras (fig. 430, *f*), que no tardan en estirarse y ramificarse para formar el conjunto de las ramas protoplásmicas. En las preparaciones neurofibrillares, estas expansiones aparecen

formadas de un haz de neurofibrillas continuadas con el retículo somático, que ha adquirido notable desenvolvimiento. Sólo más adelante, cuando estos apéndices están casi del todo modelados, se muestran las colaterales del cilindro-eje (Cajal, Lenhossék, Retzius) y la arborización nerviosa terminal. Estas colaterales se inician en la médula espinal en el cordón anterior, apareciendo después las del posterior (fig. 365, *a, d)*.

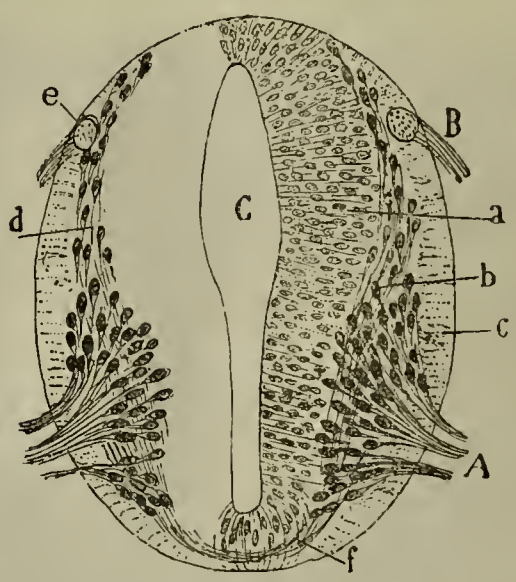

Fig. 429. — Corte esquemático del conducto medular del embrión humano (cuarta semana).—A, raíces anteriores; B, raíces posteriores; C, epéndimo; *a*, núcleos del epitelio; *b*, neuroblastos. (Según His).

Evolución de las células epiteliales y formación de la neuroglia. — Al principio no existen, como armazón del tejido nervioso, más que las células epiteliales mencionadas, las cuales se extienden desde la cavidad central á la superficie medular, donde rematan por engrosamientos cónicos de base periférica (figura 423, B). Los núcleos ocupan cualquier segmento del cuerpo ó columna celular. Desde el 2.° al 3.° de la incubación, las células epiteliales se alargan y adelgazan notablemente y los núcleos se alojan en el segmento interno ó central, generándose en torno del epéndimo un muro ó macizo nuclear característico de esta fase de la evolución medular (fig. 431). Algunos corpúsculos parecen en vías de proliferación. Durante este estadio, que

podemos designar fase de las *columnas epitélicas,* ó del epitelio primordial, cada célula nos ofrece los siguientes segmentos: la placa basal, guarnecida de un apéndice pestañoso, placa que, en unión de las de vecinos elementos, constituye la *membrana basal interna;* la región gruesa ó interna, porta-

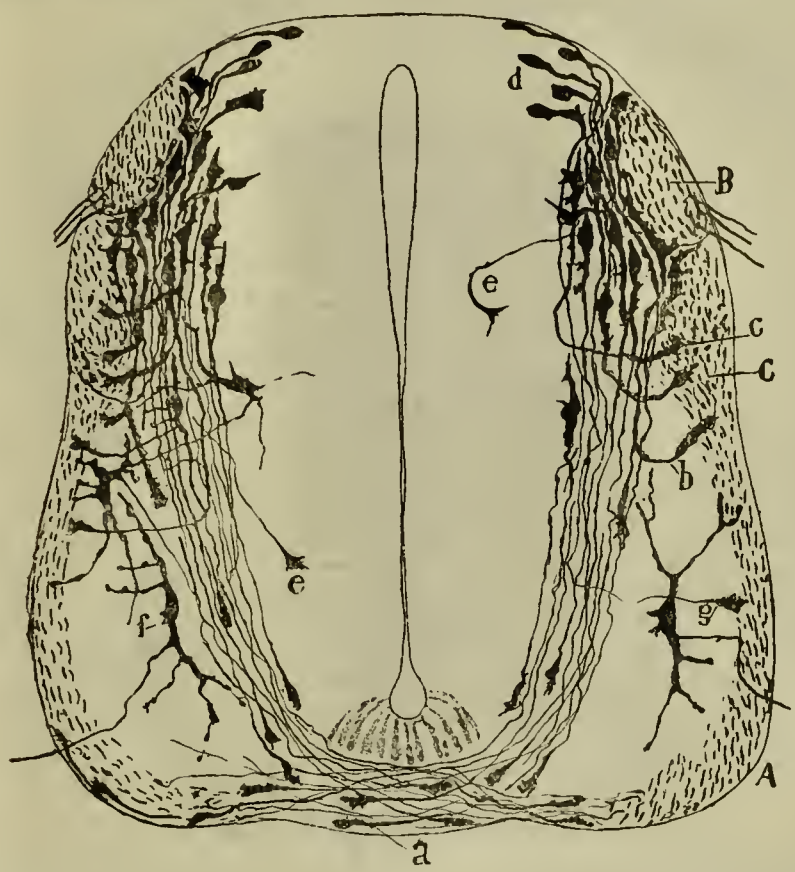

Fig. 430. — Médula espinal del embrión de pollo al cuarto día de la incubación. — A, cordón anterior; B, cordón sensitivo ú oval; *a*, conos de crecimiento comisurales; *f*, células motoras; *d*, células del asta posterior en fase de neuroblasto.

dora del núcleo *(muro* epitelial) y desprovista de expansiones; la región delgada ó periférica, donde se inicia la producción de apéndices colaterales (fig. 431), generadores, más adelante, de un plexo complejo que His estimó erróneamente como reticulado (fig. 424, D), y, en fin, la *chapa basal externa,* precedida de un ensanchamiento cónico (fig. 431), y que, en unión de las

restantes, da origen á una membrana resistente perimedular, ó *membrana limitante externa*.

Cuando la substancia blanca aparece, los cabos periféricos de las células epiteliales se bifurcan ó ramifican complicadamente y los apéndices colaterales se presentan, sobre todo aquella porción de la célula emplazada en el territorio de la substancia gris (fig. 432).

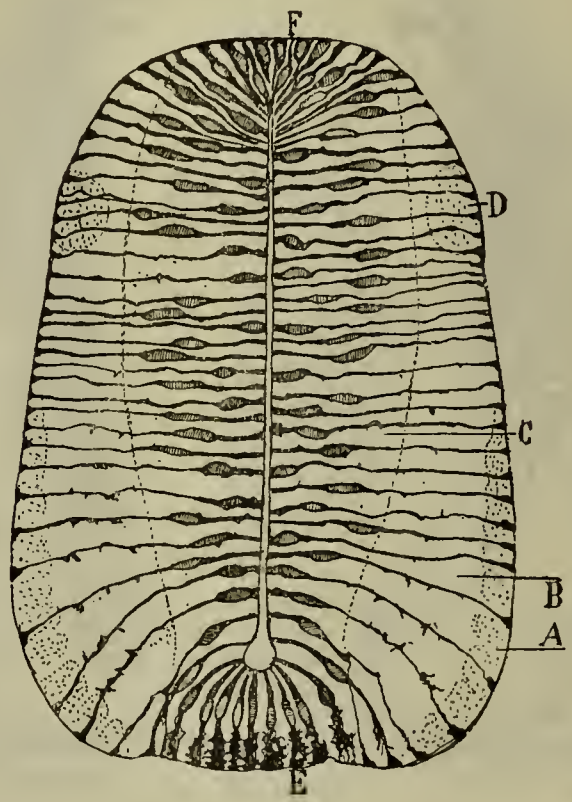

Fig. 431. — Células epiteliales primitivas. — A, región del cordón anterior; B, asta anterior; D, cordón posterior; E, epitelio de la región comisural anterior (tercer día de la incubación en el embrión de pollo).

Aparición de las células neuróglicas. — Las células de neuroglia representan, por lo menos en su inmensa mayoría, *corpúsculos epiteliales emigrados y transformados,* y no leucocitos ó células conectivas llegadas del mesodermo, como algunos autores han supuesto. En la figura 432 mostramos las fases de esta singular evolución.

Repárese cómo el cuerpo celular, portador del núcleo, se

aparta progresivamente del epéndimo, cubriéndose de apéndices divergentes y emigrando hacia la periferia. Algunas células se detienen en la substancia gris y otras invaden la blanca, y todas ellas atrofian progresivamente la expansión periférica para

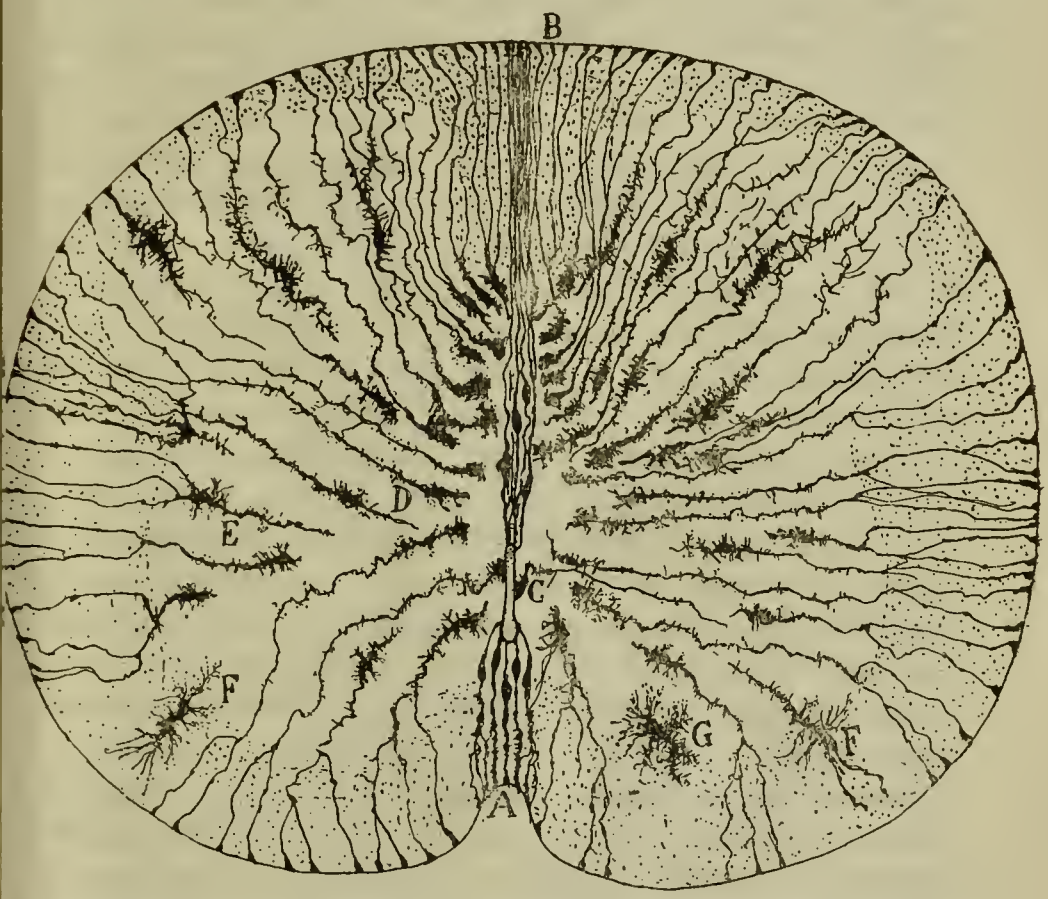

Fig. 432. — Células epiteliales y neuróglicas de la médula espinal del ratón recién nacido.—A, surco anterior donde termina un haz de células epiteliales sin transformar; B, surco posterior con otro haz de células epiteliales apenas modificadas; C, célula epitelial definitiva; D, células epiteliales que emigran para transformarse en neuróglicas; E, células neuróglicas más avanzadas en evolución; F, G, células neuróglicas casi adultas.

transformarse, en fin, en corpúsculos estrellados ó células en araña (fig. 432, F, G). En el embrión de pollo, desde el décimo día de la incubación aparecen ya en el espesor del asta anterior corpúsculos neuróglicos casi enteramente modelados; en el asta posterior la evolución es más tardía. Durante mucho tiempo y como recuerdo de su origen, las células neuróglicas conservan

todavía restos de sus expansiones radial interna y externa y cierta orientación convergente al epéndimo; mas en el estado adulto, casi todas las células han perdido estos caracteres, mostrándose pequeñas, resueltamente estrelladas, y á veces provistas de tal cual apéndice grueso que se fija en el endotelio de los capilares sanguíneos (fig. 432, G). La emisión de este apéndice vascular es fenómeno secundario sobrevenido durante la fase fetal del desarrollo (perro y gato) y continuado durante los días siguientes al nacimiento. A veces, según hemos demostrado (1914), el pie perivascular no es otra cosa que la expansión radial externa del corpúsculo epitélico atraída por el capilar. En fin, las fibrillas de Weigert aparecen en la *glía* de la substancia blanca bastante tardíamente (Da Fano). Todavía en los animales recién nacidos falta la diferenciación fibrillar en la mayoría de los corpúsculos de la substancia blanca del cerebro. De ordinario, las primeras fibrillas surgen en el apéndice vascular.

En la médula adulta de los batracios (Cl. Sala, Lenhossék) y en la de los reptiles (Cajal, Retzius), se revela como disposición constante un estado de transición entre la neuroglia puramente epitelial de los embriones y la neuroglia de los mamíferos adultos, toda vez que se encuentran células epiteliales en curso de emigración que conservan la morfología primitiva y se terminan todavía, mediante apéndices radiados, en la *pía-mater*.

Desarrollo de los ganglios raquídeos. — Las investigaciones de His han puesto de manifiesto que los gérmenes de los ganglios raquídeos son células epiteliales emigradas del ectodermo, de los lados del surco primitivo. En la figura 433, G, tomada de Lenhossék, mostramos las fases sucesivas de esta emigración. Se ve en ella que los gérmenes gangliónicos habitan primero el borde posterior del canal, júntanse después en la línea media, formando una masa central y corriéndose después, una vez cerrado dicho canal, hacia afuera, engendran unos acúmulos gangliónicos, que cada vez ocuparán una posición más anterior. Tales elementos adquieren, desde luego, una figura bipolar, de cuyas dos expansiones, la externa se dirige á la médula, y la interna hacia la periferia (fig. 434, D). Esta disposición bipolar originaria, revelada por His en los mamíferos, fué confirmada

también por nosotros en los embriones de ave y de reptil y por Lenhossék, Retzius, Cl. Sala, etc., en los de batracio y pez. En algunos peces, la fase de bipolaridad es permanente y se la halla en el estado adulto; pero en los batracios, reptiles, aves y mamíferos, la bipolaridad se transforma en monopolaridad. Como mostramos en la figura 435, que reproduce un ganglio del em-

Fig. 433.—Diversas fases de la emigración de los gérmenes de los ganglios raquídeos.—G, gérmenes ganglionares; *a*, ectodermo; *b*, trozo del canal medular. (Según Lenhossék).

brión de pollo, las dos expansiones originarias, situadas al principio en los polos de la célula ganglionar, se dirigen progresivamente á un lado de ésta; luego el protoplasma, de donde dichas prolongaciones arrancan, se estira en pedículo; el cuerpo celular parece huir hacia la periferia y, en fin, el corpúsculo adquiere una configuración francamente monopolar (B). Ulteriormente, es decir, bastante tiempo después del nacimiento, se mo-

delará el glomérulo del axon. En fin, la aparición de los fenestramientos del protoplasma de ciertos elementos constituye un fenómeno más tardío aún.

La formación de las neurofibrillas constituye proceso muy precoz. Como mostramos en la figura 434, el armazón neurofibrillar se presenta ya desde antes del tercer día de la incubación, durante una fase en que la célula sensitiva carece de apéndices ó los ofrece cortos y acabados por conos de crecimiento. Las neurofibrillas surgen en el

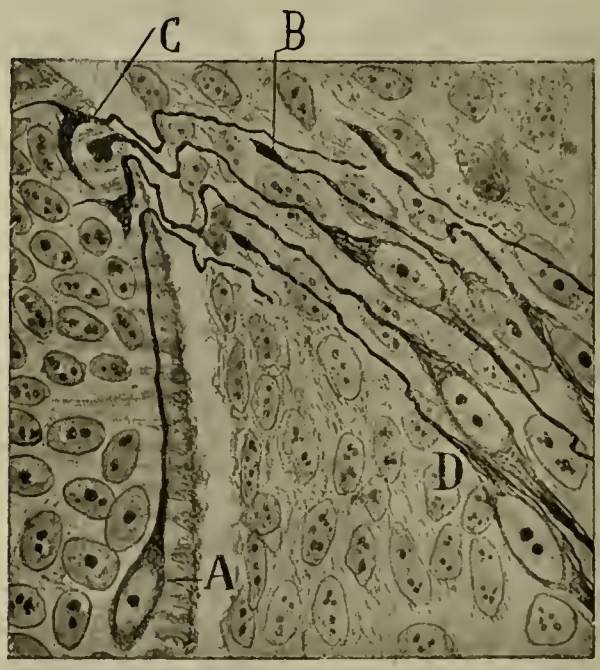

Fig. 434. — Trozo de médula y ganglio raquídeo de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. — A, célula motriz de la raíz posterior; B, cono de crecimiento de una célula sensitiva; D, ganglio sensitivo; C, bifurcación del axon á su arribo á la médula espinal.

paraje celular, donde se acumula el protoplasma, y desde esta zona fibrillógena parten dos haces polares, que son las expansiones celulares interna y externa. Al principio, faltan las neurofibrillas en torno del núcleo, que afecta posición tangencial (fig. 435, D); más adelante (desde el sexto día en el embrión del pollo), las neurofibrillas se corren en torno del órgano nuclear y éste ocupa una posición cada vez más central.

De las dos expansiones, la externa marcha hacia afuera, en dirección de la piel, cerca de la cual formará más adelante una arborización grosera; en tanto que la interna emigra hacia la médula espi-

nal, perfora la basal, bifúrcase por debajo de ésta y genera, en fin, en el territorio de la futura asta posterior un cordón longitudinal (*cordón oval* de His). Uno de los momentos más interesantes de esta emigración aparece en la figura 434, C, donde se advierte que las expansiones internas están provistas en sus cabos de gruesos conos de crecimiento y que éstos se bifurcan para engendrar las dos ramas terminales.

Fig. 435. — Ganglio raquídeo de un embrión de pollo de catorce días.— E, neuronas bipolares; F, C, neuronas de transición; A, B, células monopolares.

Evolución de los granos del cerebelo. — La bipolaridad originaria ha sido también demostrada por nosotros para los granos del cerebelo. Aquí la transformación monopolar ocurre como en los ganglios raquídeos; sólo que cuando el pedículo nervioso que sustenta ambas fibras está completamente formado, la evolución se completa por la aparición en torno del cuerpo celular de varios apéndices protoplásmicos.

Las fases por que atraviesa el grano cerebeloso son: 1.ª, fase indiferente ó célula germinal (fig. 436); 2.ª, fase ó célula bipolar horizontal, situada en una zona exterior á la capa molecular embrionaria (1); 3.ª, fase de bipolaridad vertical, durante la cual el cuerpo desciende á través de la capa molecular (4, *a*); 4.ª, fase de grano embrionario, en la cual la célula ha llegado ya á la zona de los granos (*c, d*). Este singular modo evolutivo ha sido confirmado por Lugaro, Retzius, Calleja, Athias y Terrazas.

Fig. 436.—Fases que recorren los granos del cerebelo.—1 y 2, fase de célula bipolar tangencial; 3 y 4, comienza la emigración del soma hacia la capa molecular; *a*, fase de bipolaridad vertical; *c*, *d*, *e*, *f*, fases ulteriores del grano, hasta llegar á la forma adulta *(g)*; A, capa de los granos superficiales ó células gérmenes; B, capa molecular; C, capa de los granos profundos.

Desarrollo de los ganglios simpáticos. — Las células de estos ganglios proceden verosímilmente del ectodermo y exhiben originariamente, como ha mostrado Retzius, una figura en pera (fase de neuroblasto). Las expansiones protoplásmicas nacen mucho después que el cilindro-eje. En la figura 437, D, que representa un ganglio simpático de un feto de ratón, se ven todavía células simpáticas casi exentas de expansiones, es decir, en estadio de neuroblasto.

Se discute mucho el origen de las células simpáticas. Autores hay que les atribuyen un origen ectodérmico directo, es decir, que provendrían, no de las células constitutivas del *surco primitivo* del ecto-

dermo, sino de otras regiones ectodérmicas ajenas á la formación medular. Pero en nuestro sentir, la opinión más verosímil es la que las considera como la progenie de células nerviosas germinales de la médula espinal, emigradas durante las primeras fases del desarrollo (del segundo al tercer día en el embrión de pollo) con los axones

Fig. 437.—Ganglio del gran simpático de un feto de ratón.—A, nervio simpático; D, C, neuronas en fase de neuroblasto; B, célula en fase multipolar; E, arborizaciones de fibras aferentes.

motores, y reunidas en un cordón longitudinal prevertebral. De este primer yacimiento neuronal procederían, por sucesivas emigraciones (y acaso también por proliferación), las neuronas del gran simpático visceral. Los neuroblastos simpáticos pasan también, antes de adquirir la forma monopolar, por la fase de apolaridad y bipolaridad, según muestran los preparados neurofibrillares. Las neurofibrillas se diferencian muy precozmente, partiendo de dos ó más zonas fibrillógenas.

Formación de los tubos nerviosos y de los nervios. — Según dejamos consignado, el cilindro-eje crece y se estira por entre las células mesodérmicas ó por los sistemas de substancia blanca medular, en el sentido de la menor resistencia y como atraído por la célula con quien ha de mantener relación. En su camino aproxímase á los axones congéneres, disponiéndose en cordones ó sistemas de fibras; diríase que el paraje por donde se fraguó

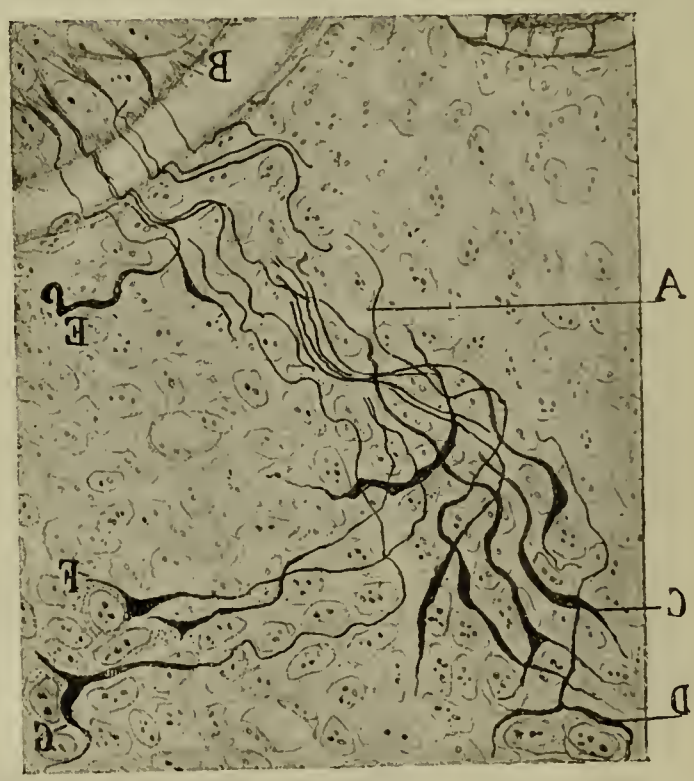

Fig. 438.– Nervio motor en vías de formación.—A, axon desnudo; B, médula espinal; C, cono de crecimiento; D, F, G, fibras bifurcadas (embrión de pollo á las cincuenta y ocho horas de la incubación).

tempranamente camino un axon, ofrece para los recién llegados el carácter de ruta trillada y, por tanto, una economía de esfuerzo. Y este fenómeno de crecimiento hacia el órgano ó célula terminal se verifica con admirable precisión, sin equivocaciones y revueltas, sin que se dé el error de que una fibra muscular reciba dos tubos nerviosos ó que un corpúsculo glandular ó contráctil quede privado de arborización nerviosa terminal (figura 438, A, C).

Cada axon es la continuación individual de una célula nerviosa, según descubrieron Kupffer y His y confirmamos nosotros, Lenhossék, Retzius, Kölliker, V. Gehuchten, etc., y modernamente Harrison, Neal, Kerr y Lugaro. Punto es este actualmente dilucidado perfectamente. Las investigaciones modernas han refutado definitivamente la aserción de ciertos autores (Bethe, Balfour, Beard, Dolirn, Joris, Pighini, etc.), quienes habían pretendido arruinar la opinión clásica de His alegando que en los nervios primitivos los axones no resultan del crecimiento individual de la expansión de un neuroblasto, sino que se producirían por diferenciación en el seno de un protoplasma ó *syncytium* construido por la fusión de cadenas celulares de origen ectodérmico.

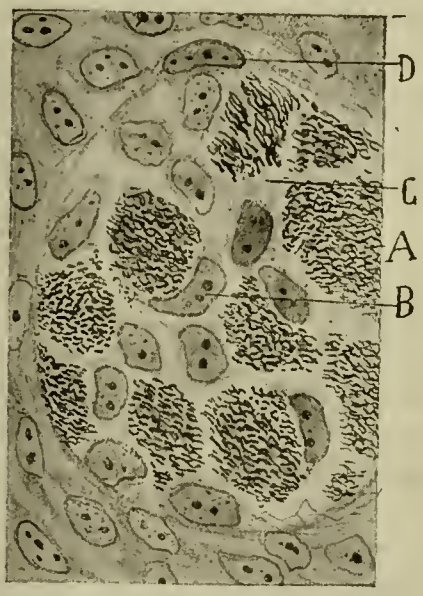

Fig. 439. — Corte transversal de un nervio motor. Embrión de pollo al cuarto día de la incubación. — A, paquetes de axones desnudos; B, células mesodérmicas atraídas por los axones; D, rudimento del neurilema.

Diferenciaciones ulteriores de las fibras nerviosas. — En un principio los nervios constan exclusivamente de axones finísimos, desnudos, sin células satélites, que circulan libremente en un espacio exento de elementos. Obsérvanse solamente en torno del haz fibrilar algunas células aplanadas ó fusiformes de origen mesodérmico, constitutivas de una membrana rudimentaria (figura 439, D).

Más adelante algunas células mesodérmicas penetran dentro del haz nervioso, pareciendo multiplicarse activamente. Tales elementos, como cediendo á una atracción irresistible, invaden progresivamente los intersticios del nervio y se aproximan á los axones, á quienes acaban por rodear íntimamente (fig. 439, B).

En las fibras del gran simpático tales células envolventes

conservan indefinidamente su aspecto primitivo, limitándose, no más, á crecer á lo largo y á elaborar una membrana protectora. Mas en los nervios de la vida de relación la célula de Schwann desempeña papel más activo é importante, conforme muestran las preparaciones teñidas con el ácido ósmico. Cuando la fibra ha crecido en espesor por debajo de la célula de Schwann, aparece un forro grasiento fino, continuo, que rodea íntimamente al axon y que parece ser producto de éste y adopta progresivamente disposición cilindroide. De distancia en distancia, es decir, al nivel del paraje en que ulteriormente se formaran las estrangulaciones, el forro mielínico muéstrase interrumpido. Al mismo tiempo, el corpúsculo de Schwann adquiere notable longitud y en el paraje en que se encuentra con sus congéneres elabora, en virtud de un mecanismo no bien conocido aún, el disco de soldadura. Las cisuras de Lantermann, la vaina de Mauthner, representan perfeccionamientos ulteriores. En los animales recién nacidos un gran número de tubos nerviosos no ha formado todavía su vaina medular; y en los tubos en que se halla modelada, ésta posee un espesor mucho más delgado que el alcanzado en el adulto.

Teorías generales acerca de la génesis de los nervios y vías nerviosas centrales.—Señaladas ya episódica ó explícitamente en las páginas anteriores, añadiremos aquí pocas palabras. Estas teorías son dos: 1.ª, la *poligenética, catenaria ó del desarrollo discontinuo,* y 2.ª, la *monogenética ó del desarrollo continuo*, formulada hace tiempo por His, Kupffer y Kölliker y sustentada por la mayoría de los neurólogos.

Teoría poligenética ó catenaria. — Imaginada primeramente por Hensen, ha sido defendida briosamente durante los dos últimos decenios por Beard, Balfour, Dorhn, Bethe, Joris, Besta, Pighini, etc., sobre la base de preparaciones teñidas mediante métodos aselectivos ó débilmente selectivos del axon. Consiste en suponer que tanto las vías centrales como los axones y neurofibrillas de los nervios resultan de la diferenciación discontinua dentro del soma de corpúsculos ectodérmicos, organizados en redes ó cadenas lineales. En el protoplasma de tales elementos surgirían los axones, al modo de las miofibrillas en las células musculares embrionarias; y ulteriormente, los segmentos axónicos elaborados por cada uno de aquéllos se fundirían por sus extremos y saldrían al encuentro de la expansión de la neurona central.

Esta concepción, muy en auge durante los años 1900 á 1910, tanto para la neurogénesis normal como para la patológica, fué arruinada merced á la introducción de los métodos neurofibrillares en el estudio de las fases primitivas del neuroblasto. Tales procederes revelan, en efecto, con insuperable claridad que las neurofibrillas del axon brotan de un polo del corpúsculo nervioso embrionario, creciendo hacia la periferia y sin invadir jamás el interior de extraños elementos, hasta modelarse en plexos y arborizaciones terminales libres. Las pretendidas cadenas no son otra cosa que células mesodérmicas tardíamente aplicadas á los cilindros-ejes extracentrales y exclusivamente destinadas á transformarse en corpúsculos de Schwann y en elementos del peri y endoneuro.

Teoría monogénica ó del desarrollo continuo de Kupffer é His.— Expuesta detalladamente en el texto, huelgan aquí nuevas consideraciones. Importa solamente notar que los trabajos de estos últimos lustros la corroboran plenamente, habiendo aportado argumentos complementarios de fuerza incontrastable.

Citemos algunos de ellos:

1.° Nuestras investigaciones acerca de la regeneración de los nervios (1905 á 1913), así como las de Perroncito (1905 á 1907), Marinesco, Tello, Dustin, O. Rossi, etc., demuestran que, los axones regenerados consecutivamente á la sección de un nervio, representan retoños ó brotes del cabo central mutilado, los cuales crecen primeramente desnudos y libres por entre los intersticios del tejido cicatricial, precedidos de maza ó cabo espesado, homólogo del *cono de crecimiento* de los axones embrionarios. Cuando ocurre un atasco, el extremo axónico transfórmase en bola *(bola de detención)*; cuando, por lo contrario, el crecimiento se verifica en óptimas condiciones nutritivas, el cono se apunta y adelgaza, constituyendo largo mechón neurofibrillar. Al menor obstáculo, ó acaso en virtud de opuestas solicitaciones quimiotácticas, dicho extremo se resuelve en arborización terminal. Con frecuencia, reconócese cierto ritmo, en cuya virtud alternan regularmente la fase de cono indiviso ó de delgada maza con la de proyección de retoños divergentes acabados en punta.

2.° Harrison y sus discípulos (1906 á 1913) han logrado conservar en plasma y *ex vitro* trozos de médula primitiva de batracio (larvas muy tempranas), habiendo observado que, al cabo de algún tiempo, el cono de crecimiento de las radiculares motrices (ó el de las fibras sensitivas) invade el terreno plasmático, creciendo en línea recta, sin el concurso de células adventicias, para generar al fin minúscula arborización terminal. Estos fenómenos han sido confirmados por Burrow (1910), Lewis (1911), etc., para quienes las fibras nerviosas son capaces de crecer y ramificarse libremente hasta en medios puramente salinos (líquido de Ringer, de Locke, etc.).

3.º Nageotte, y después de él Marinesco y Minea, Cardenal, O. Rossi, Dustin, nosotros, etc. (1909 á 1913), advirtieron que cuando un ganglio sensitivo de un animal joven se transplanta bajo la piel de otro de igual especie, pero de más edad, muchas neuronas, singularmente las superficiales, sobreviviven á los efectos de la operación,

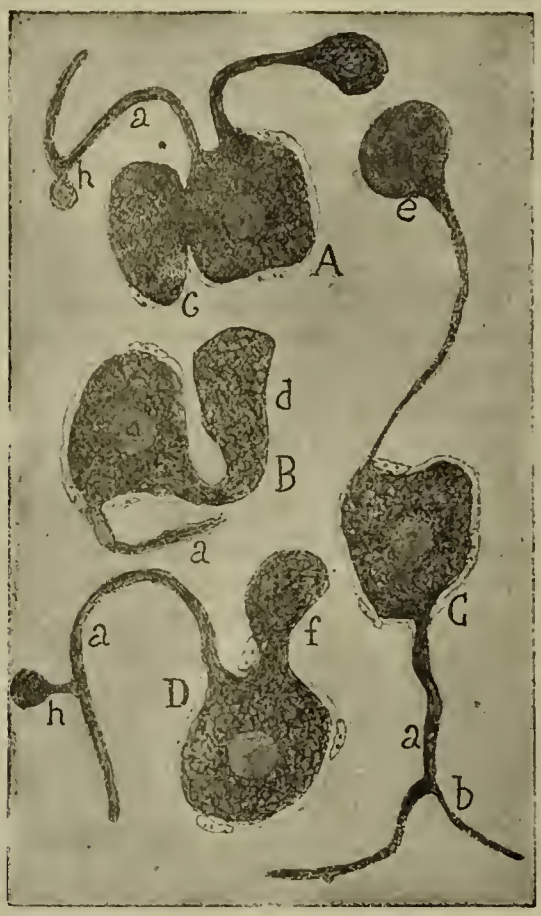

Fig. 440.— Células gangliónicas del gato, cultivadas durante dos días en líquido cefalorraquídeo. — *a*, axon; los lóbulos *d*, *f* y las expansiones acabadas en bolas; *e*, *h*, etc., son neoformaciones provocadas por el terreno de cultivo.

sorprendiéndose á los pocos días, tanto en el axon como en el soma, la emisión de retoños desnudos, coronados á menudo de botones crecientes al través del terreno y en un todo comparables á fibras nerviosas embrionarias. Por este procedimiento hemos llegado á obtener nosotros verdaderos *nervios sensitivos artificiales,* capaces de recorrer el terreno del huésped y de marchar por él durante largas distancias (fig. 442, E). En la figura 441, C, A, puede advertirse cómo

las expansiones del soma neuronal generan retoños que, reunidos en haces, cruzan la cápsula ganglionar para penetrar en el tejido cica-

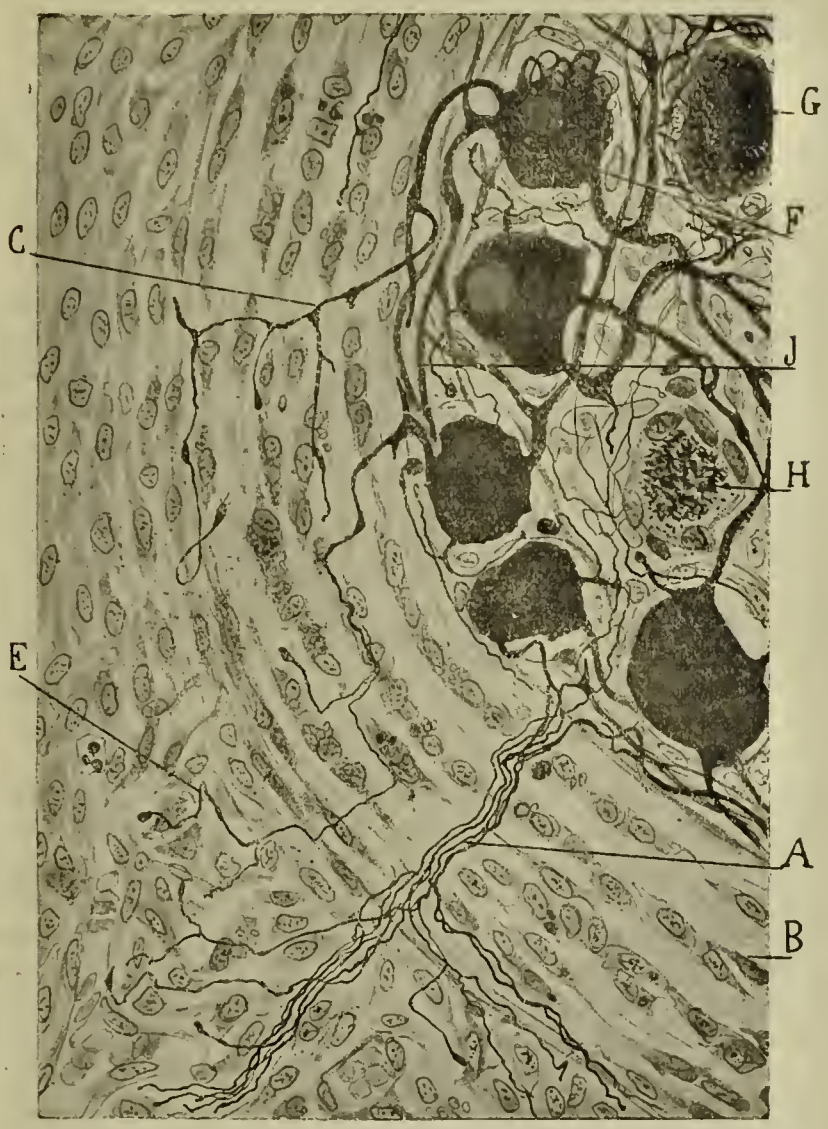

Fig. 441. — Trozo de ganglio de gato recién nacido ingertado bajo la piel de otro animal de igual edad, sacrificado seis días después de la operación. Nótese la transformación de las neuronas monopolares en multipolares (F) y la creación de nerviecitos que cruzan la cápsula (A) é inervan el huésped (E). — B, cápsula ganglionar; C, expansiones nuevas nacidas del soma; G, H, células muertas y calcificadas.

tricial del huésped. Y estos retoños, no obstante surgir del soma y parecer dendritas (C), compórtanse ulteriormente como legítimos axones, puesto que, días después, atraerán elementos mesodérmicos

embrionarios y constituirán la conocida simbiosis axoconjuntiva (célula de Schwann y cilindro-eje). En fin, en la figura 442, dibujada á menor aumento, mostramos que la formación de nuevos nervios, capaces de invadir el huésped, lógrase mejor aún al nivel de las raíces del ganglio, sobre todo en ramas periféricas del axon sensitivo; los cabos centrales cercenados se comportan aquí lo mismo que el cabo central de un cordón nervioso interrumpido. Para obtener tan curiosos nerviecitos artificiales, parece condición indispensable practicar los ingertos con los menudísimos ganglios de la cola de caballo (perro, gato ó conejo recién nacidos), á fin de asegurar la nutrición, por imbibición, hasta de las zonas centrales.

4.° De acuerdo con las observaciones de Harrison, cuando, según efectuamos primeramente nosotros (1912) y han confirmado Legendre y Minot (1913) y singularmente Marinesco (1913), se cultiva un ganglio sensitivo de mamífero en sangre ó plasma, reprodúcense en principio los fenómenos de crecimiento, sorprendidos en los ganglios transplantados, habiéndose observado también apéndices nuevos terminados en bola (fig. 440, *e),* nidos pericelulares (Legendre y Minot) y hasta axones libres crecientes al través del plasma, dentro del cual, aparte de estirarse y ramificarse libremente por amiboidismo, manifiestan tendencia á seguir y aplicarse, en virtud de un fenómeno de *estereotropismo* (Loeb y Harrison), los hilos de fibrina ó las tiras de células conectivas embrionarias. En todo caso, del cono final brotan y crecen los retoños sin el concurso directo de ningún elemento ni cadena celular.

Hipótesis tocante al mecanismo de orientación de los nervios y vías nerviosas centrales. — A. *Hipótesis de los caminos preestablecidos ó de Hensen-Held* (1906). — Las fibras nerviosas llegarían á su destino sin errores ni deficiencias á causa de que, antes de aparecer los neuroblastos, tanto el epitelio medular como las células mesodérmicas contendrían un sistema preexistente de tubos orientados hacia los territorios terminales (*Leitzellen* de Held). Ingresadas las fibras en estas expansiones celulares ó tubos orientadores, llegarían fácilmente á su destino. Por desgracia, nadie ha podido probar la realidad de tales caminos preestablecidos, ni jamás ha podido sorprenderse con certeza un cono de crecimiento dentro de un corpúsculo epitelial ó mesodérmico.

B. *Hipótesis de Ranvier y de His acerca de la marcha en el sentido de la menor resistencia.* — Para este sabio, las células epitélicas de la médula espinal primitiva constituirían, mediante sus anastomosis, un sistema de huecos ó vacíos de tal modo orientados que obligarían á los axones, en su ciego movimiento amiboide, á tomar las rutas más apropiadas para abordar el aparato terminal. Lo mismo ocurriría en el mesodermo, en donde los espacios situados en-

tre las células, entre planos membranosos, etc., servirían de cauces seguros á los conos de crecimiento y evitarían los errores de cone-

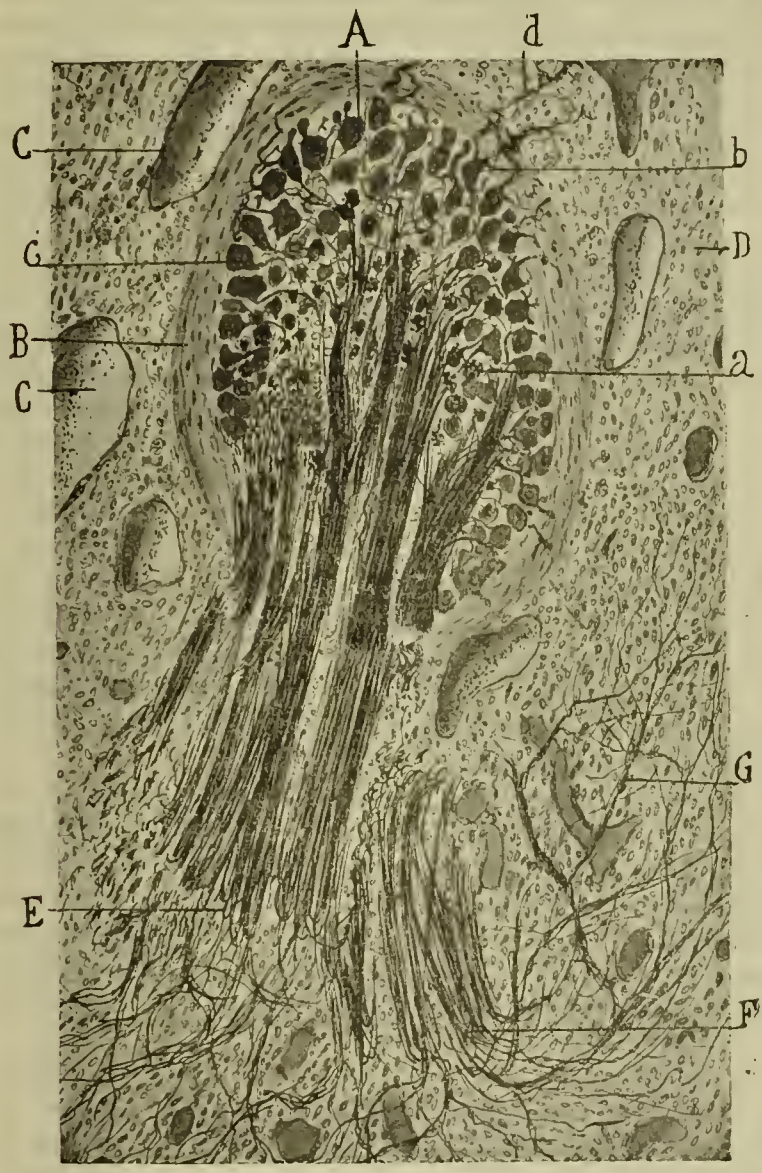

Fig. 442. — Pequeño ganglio de la cola de caballo del gato de pocos días, ingertado en un animal de la misma edad, que fué sacrificado nueve días después de la operación. — A, ganglio; B, cápsula fibrosa de éste; C, senos sanguíneos periganglionicos; D, tejido conectivo embrionario del huésped; E, F, sección de la rama periférica del ganglio donde aparecen numerosos retoños inervadores de la trama conectiva neoformada.

xión. Dictamen análogo exponen en estos últimos años Dustin, Heidenhain (1911) y Harrison (1906 á 1911), aunque con reservas y adiciones importantes. A la teoría mecánica puede oponerse desde lue-

go la falta de orientación definida de los huecos intra y extra-medulares y el hecho de que, desde la fase bipolar, los conos de crecimiento yacentes en los mismos intersticios epiteliales toman rumbos diferentes, orientándose unas veces hacia la línea media anterior (axon comisural), otras hacia el mesodermo (axon motor) y otras, en fin, hacia el cordón antero-lateral (axon funicular homolateral). No hablan, además, en favor de esta teoría los numerosos errores de trayecto cometidos por los axones al chocar contra los obstáculos, seguidos de rectificaciones de ruta, tras considerables é inútiles revueltas (fig. 428, G, y 438, E).

C. *Hipótesis quimiotáctica.* — Formulada por nosotros en 1892, como aplicación á la neurogenia de la doctrina general quimiotrópica reinante á la sazón en bacteriología y fisiología citológica, esta hipótesis, sin esclarecer totalmente el arduo problema, explica mejor que las otras el fenómeno de crecimiento de los axones en determinadas direcciones, así como el establecimiento específico de conexiones intercelulares. En nuestro sentir, todas las células que durante la evolución embrionaria se ponen en contacto con ramificaciones nerviosas, elaboran durante su estado primitivo ciertas materias reclamos de carácter específico, que, derramándose en los intersticios celulares del mesodermo, impresionarían el cono de crecimiento; éste, al modo de los leucocitos excitados por las substancias microbianas, pondríase en camino creciendo hacia la fuente quimiotáctica y englobando ó rodeando al fin el corpúsculo secretor.

Así, la secreción específica de las células del *miotomo,* sentida por los axones errantes por el mesodermo perimedular provocaría la penetración de éstos en los territorios musculares, y, por consiguiente, la formación de los nervios motores. Otra secreción de los neuroblastos rudimentarios del asta posterior ó acaso del epitelio medular, derramada en la región mesodérmica donde yacen las células sensitivas de los ganglios raquídeos, darían ocasión á la formación de las raíces posteriores, etc., etc.

En fin, en el adulto, aunque amenguada, no habría desaparecido enteramente esta propiedad de crecimiento de los axones y de liberación de materias quimiotácticas, explicándose fácilmente la aparición de los talentos profesionales (destreza del pianista, del orador, del escritor, etc.), por la creación de nuevas vías de asociación interneuronal ó por el robustecimiento de las preexistentes. En nuestra hipótesis, la educación misma no sería otra cosa, orgánicamente considerada, que la producción (por crecimiento de los axones y mayor extensión y ajuste de las articulaciones nerviosas) entre centros cerebrales ó entre centros medulares, los músculos y la piel, de anchos y trillados caminos por donde los impulsos nerviosos se propagan sin esfuerzo y se tornan de cada vez más inconscientes.

La teoría quimiotáctica ha sido confirmada experimentalmente por Forssman, Lugaro, nosotros, Tello, Nageotte, Marinesco y Minea (1905 á 1909), autores que han estudiado el mecanismo del crecimiento y orientación de los retoños nerviosos en el proceso de regeneración de los nervios ó en los fenómenos consecutivos á la transplantación de los ganglios. Estos autores han demostrado que las substancias quimiotácticas, orientadoras de las fibras neoformadas, son liberadas por restos del nervio degenerado (Forssman), por los tubos vacíos del cabo periférico del nervio interrumpido (Cajal, Lugaro, Marinesco, por las reliquias de la placa motriz antigua ó separada de su fibra nerviosa (Tello) y, en fin, por los conglomerados de corpúsculos satélites endocapsulares que reemplazan á ciertas células destruídas de los ganglios transplantados (Nageotte).

CAPÍTULO XXIX

PREPARACIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO
ESTUDIO DE LOS NERVIOS — ESTUDIO DE LOS CENTROS NERVIOSOS — MÉTODOS DE LA DISOCIACIÓN Y DE LOS CORTES

DISOCIACIÓN

Disociación de los nervios.—La disociación puede realizarse en fresco con ayuda de las agujas, operando rápidamente para que la preparación no se seque ni la mielina coagule. Pone de manifiesto este procedimiento las estrangulaciones de Ranvier, las cisuras de Schmidt ó de Lantermann y los núcleos de la vaina de Schwann. Pero los resultados serán mucho más demostrativos si la disociación se ejecuta en nerviecitos (el ciático de la rana, por ejemplo), fijados á favor de una maceración de seis á doce horas en el ácido ósmico (1 por 100). Para conservar estas preparaciones sin que la mielina se retraiga y arrugue al montarlas en glicerina, será conveniente fijarlas, antes de la disociación, con el alcohol absoluto.

El método de los cortes es también utilísimo, y se aplica de un modo especial á los nervios fijados por el ácido ósmico. Las secciones transversales, que deben ser muy finas (3 á 5 μ de espesor), mostrarán claramente la capa medular, el cilindro-eje y la vaina de Mauthner. Dicho se está que para lograr tan finos cortes es de todo punto indispensable un buen microtomo y la inclusión previa en la parafina.

La demostración de las estrías de Fromann, así como del cemento de soldadura, exige la impregnación argéntica. A este fin se disociará rápidamente un nervio vivo (el ciático de la rana, por ejemplo), y antes que la preparación se deseque, se la lubrificará durante dos ó tres minutos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La reducción argéntica se obtendrá á la luz solar bajo una gota de agua. Estas preparaciones no se conservan bien en glicerina ni en el bálsamo, á consecuencia de las impregnaciones secundarias que sobrevienen.

Para las cisuras de Lantermann conviene especialmente el método

de Boberi: maceración por seis á doce horas de un nervio vivo en una mezcla, á partes iguales, de ácido ósmico al 1 por 100 y de nitrato de plata en igual proporción. Una vez realizada la disociación y expuesto el preparado á la luz, aparecerán negras las cisuras de Lantermann y los discos de soldadura, y pardos ó grises los segmentos mielínicos.

MÉTODO DE LOS CORTES

El método de los cortes es, sin disputa, el más importante, y se le combina siempre con procedimientos de coloración selectiva, entre los cuales conviene especialmente el de Nissl, el de Weigert-Pal para la mielina, el de Weigert para la neuroglia, los de Golgi y Cox para las expansiones de las células nerviosas, los de Bielchowski y Cajal para las neurofibrillas.

La fijación y endurecimiento de las piezas varían según el método de coloración que deba aplicarse. En general, la coloración de la mielina y de la neuroglia exige la induración en el líquido de Müller ó el bicromato de potasa, mientras que los métodos de Nissl, neurofibrillares, etc., se aplican de preferencia sobre piezas fijadas en formol (cortes por congelación) ó en los alcoholes.

Método de Kultschitzky ó de Kultschitzky-Wolters:

1.° Induración en líquido de Müller ó de Erlicki. También cabe usar la fijación en formalina á condición de servirse después del mordiente rápido de Weigert.

2.° Alcohol, inclusión en celoidina. Microtomo.

3.° Coloración de los cortes, de doce á veinticuatro horas, en esta mezcla:

Solución alcohólica al 10 por 100 de hematoxilina..	10 gramos.
— acuosa al 2 por 100 de ácido acético.....	90 —

4.° Paso directo de los cortes á este baño diferenciador, donde permanecerán varias horas hasta que la coloración resulte satisfactoria (se puede comprobar de hora en hora al microscopio):

Solución saturada de litina.....	100 gramos.
— al 1 por 100 de ferricianuro de potasio...	10 —

5.° Lavado en agua abundante.

6.° Alcohol, xilol, bálsamo.

Este método es hoy muy empleado á causa de su certeza y de poder aplicarse mejor que el de Weigert-Pal á extensas secciones de los centros nerviosos. En efecto, el paso de los cortes por el hiperman-

ganato y el baño de sulfito (proceder de Pal) les presta una fragilidad notable, que se evita con el licor diferenciador litinado.

Si en vez de piezas fijadas en líquido de Müller nos servimos de órganos tratados por el formol y seccionados con el microtomo de congelación, se someterán los cortes por media hora á una solución á $^1/_2$ por 100 de ácido crómico, que se calentará hasta producir vapores.

También se aplica con ventaja, después de la fijación en formol, el *mordiente rápido* de Weigert: bicarbonato de potasa, 5; fluorcromo, 2'5; agua destilada, 100. Este mordiente, en que se sumergen las piezas (no los cortes), actuará durante cinco días en estufa.

Si deseáramos descartar el color amarillento del fondo en que destacan coloreadas en violado las fibras meduladas, recurriremos á la modificación de Wolters, que consiste en someter los cortes, después de teñidos en la hematoxilina acética, al líquido de Müller (unos minutos), y luego al hipermanganato potásico (como en el método de Pal).

Proceder de Nageotte (1909):

1.° Fijación de las piezas en el líquido siguiente, que debe actuar uno ó más días:

Formol.....	100 gramos.
Agua.....	300 —
Sulfato de sosa hidratado.....	10 á 70 —

2.° Los cortes obtenidos con el microtomo de congelación colócanse en láminas de cristal, donde se desengrasan mediante un rápido lavado en alcohol absoluto.

3.° Coloración en porta-objeto con la hemateína de Mayer *(hémalum)*, que debe actuar en estufa y bajo cámara húmeda durante media hora.

4.° Después del lavado de los cortes en agua, son éstos diferenciados en la solución decolorante de Weigert (ferricianuro, 2'5; agua, 100; bórax, 2) más ó menos diluída.

5.° Lavado y montaje en bálsamo como de ordinario.

Este método da también buenos resultados, decolorando por el proceder de Weigert-Pal. La ventaja más importante del método de Nageotte, estriba en que treinta horas después de la recepción de las piezas cabe ya obtener excelentes coloraciones de la mielina, cuando, según es sabido, usando el proceder ordinario de Weigert hay que esperar dos ó tres meses.

Proceder de Nissl para la coloración de los grumos cromáticos (1903):

1.° Inducación en alcohol de 96°.

2.° Secciones sin inclusión. Para pegar las piezas al corcho, se

usará una solución concentrada de goma arábiga que se solidificará en el alcohol.

3.º Inmérgense los cortes en este colorante:

Azul de metileno β	3'75 gramos.
Jabón de Venecia	1'75 —
Agua	1.000 —

Esta solución, que debe estar preparada con meses de anticipación, actuará en caliente por una ó más horas. Una solución de azul de toluidina usada en las mismas condiciones da también buenos resultados.

4.º Enjúganse los cortes con papel chupón sobre porta-objetos y se diferencian en:

Aceite de anilina	10 partes.
Alcohol de 96º	90 —

5.º Se enjugan nuevamente y se aclaran con aceite de Cayeput y después en bencina. En fin, conservación en colofonia al xilol.

Los grumos cromáticos adquieren tono azul intenso y los nucleolos aparecen también vigorosamente teñidos.

El método de Nissl puede simplificarse del modo siguiente:

1.º Trozos pequeños de centros nerviosos frescos, se endurecen por cuatro á ocho días en el alcohol de 40º ó absoluto. Inclusión en celoidina.

2.º Los cortes, que deben ser finos, se coloran por diez ó más minutos, en una solución saturada ó muy concentrada de fuchina básica (Nissl), de azul de metileno β, ó de tionina (Lenhossék).

3.º Lavado de los cortes en alcohol de 40º, hasta que tomen un matiz azul claro (tionina) ó rosa (fuchina) y montaje en bálsamo. Si utilizamos la tionina, los grumos cromáticos aparecerán de violado obscuro, los nucleolos de azul, y la substancia blanca de azul pálido casi incolora. Al nivel de la mielina suele aparecer un precipitado irregular de matiz rojo.

A ejemplo de Held, cabe dar al fondo un tono de contraste con la eritrosina.

Métodos para la demostración de la morfología de las neuronas. — *Método de Golgi.*—Este método, descrito ya en la técnica general (induración preliminar por tres ó cuatro días en la mezcla osmio-bicrómica), sólo da buenos resultados en embriones y animales recién nacidos ó de pocos días. Los objetos de estudio sobre que deberán ejercitarse primeramente los que se propongan dominar tan importante recurso analítico, serán: la médula del embrión de pollo desde el octavo día

de la incubación; la médula de ratón y de gato recién nacidos; el asta de Ammon del conejo común de quince á veinte días, la corteza cerebral y cerebelosa del conejo, rata ó gato de quince días. Cuando se hayan obtenido buenas preparaciones en tales objetos, se pasará á los más difíciles, tales como la retina y el gran simpático adultos, las terminaciones nerviosas periféricas, los plexos intestinales, etc.

En los temas difíciles, y siempre que la primera tentativa de impregnación no haya coloreado sino escasas fibras nerviosas, se recurrirá á la doble impregnación. Muchos la emplean exclusivamente para todos los casos.

Como en cada impregnación suelen colorearse solamente algunas especies de fibras y células, todo estudio formal hecho con este método se fundará en el examen de muchísimos cortes y de numerosas impregnaciones del mismo órgano, porque las células ausentes de un preparado, suelen mostrarse en otros. Debe, por tanto, el observador integrar en una noción total de estructura los resultados parciales logrados mediante el examen de muchos buenos preparados.

Método de Ehrlich.—En este método, el azul de metileno se hace llegar á las partes nerviosas, ora por inyección en las arterias del animal recién sacrificado, ora mediante lubrificación directa reiterada de los órganos puestos al descubierto (pág. 110).

En general, siempre que sea posible, se utilizará el procedimiento de inyección, porque altera menos los tejidos que la lubrificación directa y da fondos totalmente incoloros ó muy poco teñidos. Para orientar al principiante, vamos á exponer aquí dos ejemplos:

Supongamos que nos proponemos colorear con el azul los plexos nerviosos del intestino delgado. Desde luego se escogerá un animal pequeño que tenga muy delgadas las túnicas de aquel órgano (conejo común de ocho á quince días, conejillo de Indias, rata, etc.), porque como no aparece la reacción más que en zonas muy superficiales (un tercio de milímetro de ordinario), si el animal posee una túnica muscular superficial espesa (por ejemplo, el gato y perro adultos), será imposible la penetración, hasta el plexo de Auerbach, del oxígeno del ambiente, y no habrá, por consecuencia, impregnación nerviosa.

Esta regla de escoger órganos delgados es general, y todavía debe aplicarse con más rigor en la médula espinal, retina y cerebro de los mamíferos.

Elegido el animal, se inyectará por la aorta torácica, es decir, hacia abajo, el azul (disuelto en agua salada al 0'75 por 100 ó al 0'5 por 100), en cantidad tal que el intestino adquiera un tinte azul de mediana intensidad. Una inyección forzada dará un azul obscuro, perjudicando la reacción y coloreando demasiadamente el fondo muscular. Acto continuo se separarán las asas intestinales, que se colgarán dentro de una cámara húmeda, de suerte que el aire las bañe por todas partes.

Aquí permanecerán durante tres cuartos de hora á hora y media.

Por último, trozos de dicho órgano se fijarán, ora en picrato-amónico, ora en molibdato (pág. 110). Aplicado al tubo intestinal el molibdato, tiene el inconveniente de prestar demasiada opacidad á la trama muscular; en este caso, pues, como en algunos otros, será preferido el picrato-amónico de Dogiel, á causa de la propiedad que posee de transparentar notablemente los tejidos y de evitar la rigidez de los músculos lisos.

El líquido de Dogiel no es otra cosa que una solución saturada acuosa de picrato amónico, á la que se añaden algunas gotas de ácido ósmico (solución de picrato, 100; solución de ácido ósmico al 1 por 100, 1).

De este líquido, donde las piezas deben permanecer de seis á veinticuatro horas, se trasladarán éstas á la glicerina saturada de picrato amónico, y en ella se abandonarán por doce á veinticuatro horas, hasta que adquieran la debida transparencia. El examen se practicará en este mismo vehículo, para lo cual será el intestino reducido por exfoliación á sus túnicas musculares, las cuales se montarán de plano sobre el porta, y se comprimirán ligeramente por una laminilla.

Es posible transformar en definitivos estos preparados. Para ello, antes de llevar las piezas á la glicerina, se las trata, como aconsejan Dogiel y Bethe, por la solución de molibdato amónico (pág. 110), donde permanecen de doce á veinticuatro horas. Aquí el precipitado de azul de metileno se vuelve insoluble en alcohol, y podremos, por consiguiente, deshidratar la preparación y montarla en bálsamo, á la materia ordinaria.

Citemos otro ejemplo: la coloración de la retina de las aves. El animal preferido será la paloma, porque su retina es muy delgada y extensa.

También serán ventajosos la gallina, el gato y el conejo.

Aquí se puede teñir por lubrificación ó por inyección; ambos procedimientos dan buen resultado. No obstante, si deseamos la coloración de las fibras centrífugas, debe ser preferida la inyección. Con tal objeto, se hace penetrar el líquido por las carótidas, se extirpan inmediatamente los globos oculares, se separa con las tijeras el hemisferio posterior de los mismos, que se privará del humor vítreo, y una vez la retina al descubierto, se mantendrá por una hora en cámara húmeda. Para fijar, en este caso escogeremos el molibdato, en cuya solución quedará la retina de seis á veinticuatro horas.

Si se desea observar la retina de plano, montada en preparación definitiva, se lavará primeramente durante media hora con agua para extraer el molibdato (y á fin de evitar que el órgano se arrugue, convendrá practicar el lavado entre dos laminillas, echando agua por un

lado y absorbiéndola mediante papel secante por otro); se deshidratará en alcohol de 40° ó absoluto que contenga pequeña cantidad de cloruro platínico ó que se halle á 0, como aconseja Bethe; se aclarará en xilol y se montará en damar disuelto en xilol.

Caso de ser precisa la ejecución de cortes, se procederá después de la aclaración en xilol á una inclusión en parafina. Dada la delgadez del órgano, este encastramiento podrá hacerse en una ó dos horas. Los cortes, que tendrán bastante grosor, se desparafinarán con xilol y se montarán en damar disuelto en este mismo líquido.

Los dos casos citados pueden servir de pauta para todos los demás. Mas el procedimiento de induración podrá variar según los objetos estudiados. En general, evitaremos el cortar siempre que se pueda, pues los líquidos indurantes, particularmente el alcohol, obrando á la larga, palidecen algo la impregnación. Para el cerebro, asta de Ammon, médula espinal, etc., la induración necesaria á la práctica de cortes se hará en el formol platínico.

El azul de metileno colora casi uniformemente de azul el protoplasma de las fibras y células nerviosas. A la manera del método de Golgi, la impregnación no se extiende á todas las células de un foco, sino que en cada preparación prefiere ciertos elementos. Por esta razón el estudio debe también basarse en el examen de numerosísimas preparaciones.

Una advertencia para terminar con este método: la acción del aire, necesaria para la asimilación del azul, provoca en las expansiones protoplásmicas una degeneración varicosa particular, tomada como disposición normal por ciertos autores. Por igual causa se exageran notablemente también las irregularidades de las ramificaciones nerviosas, que, en ocasiones, parecen sartas de granos azules unidos por puentes incoloros. Es preciso tener presente tales alteraciones (que, por cierto, no aparecen en las preparaciones de Golgi gracias al empleo de la fijación previa con la mezcla osmio-bicrómica) para evitar groseros errores de interpretación. Las coloraciones que más fe deben merecernos son las obtenidas en el período inicial de la reacción, cuando las alteraciones provocadas por el aire son poco graduadas aún.

Métodos para la coloración de la neuroglia. — *Coloración de la neuroglia por el método de Weigert.* — Mediante este método se obtiene una coloración azul específica de las fibrillas de las células neuróglicas, quedando incoloro el cuerpo mismo de éstas, cuyo protoplasma granuloso viene á ser el punto de entrecruzamiento de las citadas hebras. Tampoco se tiñen los corpúsculos epiteliales ni las espinas ó apéndices penniformes de ciertos elementos en araña (células penniformes de la substancia gris).

He aquí el *modus faciendi:*

1.° Las piezas, no muy voluminosas, de centros nerviosos humanos (en los animales los resultados son muy inciertos) se induran previamente, ya en formol al 10 por 100, ya en bicromato al 5 por 100.

2.° Dichas piezas permanecen luego por ocho días en el líquido siguiente:

Agua	100	gramos.
Acetato de cobre	5	—
Ácido acético	5	—
Solución de alumbre de cromo	2'5	—
Formol	10	—

Esta solución se prepara disolviendo primeramente por cocción en agua el alumbre y añadiendo después el ácido acético y el acetato de cobre finamente pulverizado.

3.° Induración en alcohol, inclusión en celoidina y ejecución de cortes finos.

4.° Los cortes se llevan á un líquido reductor formado por la solución al 0'3 por 100 de hipermanganato potásico. En este licor permanecen diez minutos.

5.° Lavado rápido en agua y sumersión de los cortes en esta solución:

Cromógeno	5	gramos.
Ácido fórmico	5	—
Agua	100	—

Antes de usarlo, se añaden á 90 partes de este licor 10 de una solución acuosa, al 10 por 100, de sulfito de sosa.

6.° Lavado rápido en agua y coloración subsiguiente en solución concentrada de violado de metilo, á saber:

Violado de metilo disuelto á saturación en alcohol de 70°.	100	gramos.
Solución acuosa de ácido oxálico al 5 por 100	5	—

7.° Fijación del color mediante la solución yodo-yodurada del método de Gram (solución de yodo á saturación en yoduro de potasio al 2'5 por 100).

Este líquido se aplica durante algunos minutos sobre los cortes previamente fijados en el porta-objetos y enjugados con papel secante.

8.° Decoloración en una mezcla á partes iguales de xilol y aceite de anilina.

9.° Absorción con papel secante del exceso de xilol y montaje en bálsamo ó damar disueltos en este mismo ménstruo.

Proceder de Anglade:

1.° Las piezas se induran durante cuatro días en el líquido siguiente:

Solución acuosa al 7 por 100 de sublimado.....	1 volumen.
Líquido de Fol (pág. 87).....	3 —

2.° Lavado en agua corriente dos horas.

3.° Deshidratación en alcohol ó acetona. Inclusión en parafina.

4.° Los cortes se sumergen, durante media á una hora, en

Solución saturada de azul Victoria (de Grübler),

que se mantendrá caliente, aunque sin llegar á la ebullición.

5.° Después de derramar el excedente de color, sométense los cortes á la solución de Gram:

Yodo.....	1 gramo.
Yoduro de potasio.....	2 —
Agua destilada.....	300 cent. cúb.

6.° Diferenciación en

Xilol.....	1 gramo.
Aceite de anilina.....	2 —

7.° Montaje en bálsamo del Canadá.

Las fibras neuróglicas aparecen teñidas de violeta intenso, así como los núcleos. El resultado es análogo al del método de Weigert.

Método de Ranke para la neuroglia:

1.° Las piezas nerviosas indúranse en cualquier líquido endurecedor, y de preferencia en el formol.

2.° Inclusión en celoidina ó parafina. Los cortes no deben pasar de 15 μ.

3.° Montados en porta-objeto, se enjugan con papel secante, evitando los pliegues.

4.° Tratamiento de los cortes por el alcohol metílico para disolver completamente la celoidina. Enjugamiento de los mismos.

5.° Coloración con una solución filtrada al 1 por 100 de *Victoria-blau* (Grübler) durante una hora en estufa y varias horas más á la temperatura ordinaria. No hay inconveniente en abandonar el preparado en la estufa por un día.

6.° Diferenciación en el líquido de Lugol como en el método de Weigert para la coloración de la fibrina. Randoni, que ha modificado un tanto esta operación, aconseja:

a) Enjugar los cortes con papel chupón.

b) Verter sobre ellos unas gotas de un líquido compuesto de yoduro potásico al 5 por 100 y de yodo á saturación, que debe obrar algunos segundos.

c) Nueva desecación del corte con papel chupón.

d) Disolución del exceso de color en esta mezcla:

Aceite de anilina	1	gramo.
Xilol	1 ½	—

e) Nueva desecación de los cortes.

f) Lavado repetidas veces con xilol.

g) Desecación del corte y después bálsamo ó colofonia en bencina.

Método de Alzheimer para la coloración de la neuroglia y de los vasos:

1.° Induración en alcohol (celoidina, etc.), ó también en el mordiente de Weigert, en cuyo caso se hacen las secciones con el microtomo de congelación.

2.° Inmersión de los cortes, de dos á doce horas, en solución de ácido fosfomolíbdico. (En los cortes de la celoidina una hora no más).

3.° Lavado en agua durante diez ó más minutos.

4.° Coloración en este líquido de Mann, por una hora:

Azul de metileno en solución acuosa al 1 por 100.	35	cent. cúb.
Eosina (sol. acuosa al 1 por 100)	45	—
Agua destilada	100	—

5.° Lavado en agua durante diez minutos. (Si se usó el mordiente fijador de Weigert, sólo medio minuto).

6.° Paso rápido de los cortes por el alcohol absoluto. Xilol y bálsamo.

Este bello método colorea la neuroglia en rojo y los vasos en azul.

Método de Cajal al formol-urano:

1.° Piezas nerviosas de 2 á 2'5 milímetros de espesor son fijadas desde ocho á veinticuatro horas en:

Nitrato de urano	1	gramo.
Formol	15	—
Agua	100	—

Este baño debe actuar de veinticuatro á cuarenta y ocho horas. Si las piezas pertenecen á animales jóvenes y se sacan entre las ocho y veintidós horas, se obtendrá la coloración del *aparato reticular* de Golgi. (Véase más adelante).

2.° Previo rápido lavado de las piezas, se sumergen en nitrato de plata al 1'5 por 100 (si las piezas son pocas ó de escasa extensión, puede descenderse al 1 y hasta al 0'75 por 100). La acción de este baño debe durar veinticuatro horas por lo menos, á fin de que el nitrato tenga tiempo de penetrar en el espesor de la pieza y sufrir un principio de reducción en presencia de reliquias del formol. De ordinario dejamos las piezas en nitrato, de treinta y seis á cuarenta y ocho horas.

3.° Después de lavadas dos veces en agua destilada para quitar el nitrato superficial (esta maniobra debe durar algunos segundos), se sumergen en este reductor:

Hidroquinona	2 gramos.
Formol	6 —
Agua	100 —
Sulfito de sosa anhidro	0'15 á 0'25 —

es decir, cantidad suficiente para que el baño adquiera á los pocos instantes un color amarillo. El exceso de álcali, patentizado por el tono pardo-negro del reductor, suele dar malos resultados. Un exceso de formol tampoco es favorable.

4.° Transcurridas ocho á doce horas, sácanse las piezas del reductor, se lavan rápidamente y se induran en alcohol. Englobamiento en celoidina, etc.

Las células de neuroglia preséntanse bien teñidas, á partir de una zona cortical. En ciertos parajes imprégnanse solamente los *gliosomas*. Con particular energía suelen teñirse, sobre todo en los animales jóvenes, los pedículos vasculares.

Método del sublimado oro (Cajal, 1913):

1.° Piezas frescas de cerebro humano se induran desde dos á seis días en este líquido:

Formol	14 gramos.
Agua destilada	100 —
Bromuro de amonio (ó nitrato de amoníaco)	2 —

2.° Cortes por congelación que no bajen de 20 μ de espesor.

3.° Previo lavado rápido en agua destilada, sumérgense las secciones en el siguiente baño:

Cloruro de oro moreno (Merck) al 1 por 100.	10 cent. cúb.
Sublimado (recién preparado) al 5 por 100	8 á 10 —
Agua destilada	50 —

Aquí permanecerán (en la obscuridad ó á media luz) de cuatro á ocho horas, hasta que adquieran tono púrpura intenso.

4.° Lavados en agua destilada, llévanse los cortes á este baño fijador:

Hiposulfito de sosa al 5 por 100.....	10 cent. cúb.
Bisulfito sódico.....	2 ó 3 gotas.

5.° Lavado de los cortes en alcohol al 50 por 100. Después se los extiende en el porta-objetos, donde son enjugados con papel filtro bien fino y limpio. En fin, deshidratación en alcohol absoluto, esencia de orégano, xilol y bálsamo.

Si la reacción sale bien, las células de neuroglia aparecen teñidas en rojo purpúreo, y en rosa ó violado claro las neuronas. Las fibras nerviosas son poco ó nada visibles.

Este proceder da, sobre todo, buenos resultados en el cerebro humano adulto. Obtiénense, no obstante, también preparaciones aceptables en el cerebro del gato y perro, menos buenas en el conejo.

Método de Achúcarro al tanino y plata amoniacal:

El método del tanino y la plata amoniacal de Achúcarro, que tiñe especialmente la fibrilla conectiva reticular ó primitiva, da también resultados excelentes en la coloración de la neuroglia protoplásmica y fibrosa. La fórmula más constante para la neuroglia protoplásmica de la corteza cerebral es la recientemente aconsejada por el autor.

1.° *Fijado.* — Trozos de un espesor no mayor que 2 ó 3 milímetros se mantendrán, durante dos ó tres días, en una solución de formol al 20 por 100, á la que se haya añadido el amoníaco necesario para obtener reacción alcalina con el papel de tornasol.

2.° *Secciones.* — No deben exceder de 10 micromilímetros de espesor.

3.° *Mordiente.* — Se calientan los cortes, bien extendidos, en una solución acuosa de tanino puro al 10 por 100, hasta desprendimiento de vapores durante cinco minutos.

4.° *Lavado.* — Después de enfriado el líquido mordiente, se lavan los cortes, uno por uno, en agua destilada con dos gotas de amoníaco, hasta que recupere su flexibilidad perdida en el baño del mordiente.

5.° *Impregnación.* — Se lleva á cabo en una solución de plata amoniacal (según Bielschowsky), muy diluída (3 ó 4 gotas de la solución madre en 10 cent. cúb.), y cuando la substancia blanca empieza á teñirse, se da por terminada la impregnación.

6.° *Reducción.* — Se efectúa en el mismo líquido que sirve para el fijado y debe durar cinco minutos. Después de lavado en agua destilada, pueden dorarse los cortes en una solución diluída de cloruro de oro ó montarse directamente en bálsamo después de alcoholes y xilol.

Métodos neurofibrillares. — Son los recursos técnicos encaminados á presentar el armazón neurofibrillar de las células y fibras nerviosas. Clasifícanse en procederes de coloración y procederes de impregnación. No vamos á describir todos los métodos propuestos, sino los más importantes, y con especialidad los de impregnación al nitrato de plata, que son los más empleados hoy.

A. *Procederes de coloración. Método de Bethe:*

1.° Bloques de tejido nervioso son fijados en solución acuosa de ácido nítrico (del 3 al 7 por 100).

2.° Alcohol de 36°, de doce á veinticuatro horas.

3.° Inmersión durante medio ó un día en:

Amoníaco (pes. esp. 0'95)	1 gramo.
Alcohol de 95°	8 —
Agua destilada	3 —

4.° Alcohol de 96°, por seis á doce horas.

5.° Inmersión de las piezas por varias horas en:

Ácido clorhídrico (pes. esp. 1'18)	1 cent. cúb.
Alcohol de 96°	10 —
Agua destilada	3 —

6.° Alcohol por algunas horas.

7.° Inmersión durante medio día en agua destilada.

8.° Durante un día abandónanse las piezas en una solución de molibdato amónico al 4 por 100.

9.° Lavado, por algunos segundos, en agua; después alcohol, xilol, parafina, etc.; cortes de 10 μ, que se fijarán en el porta-objetos con albúmina glicerinada.

10. Extraída la parafina al xilol, lavada con alcohol, y, finalmente, mojada en agua, los cortes se llevan á la estufa á 58°, donde permanecen durante cuatro á diez minutos.

11. Arrojada el agua sobrante de los cortes, se colorean éstos en solución de toluidina al 1 por 1.000. Acción de la estufa á 58° durante diez minutos.

12. Lavado con agua y tratamiento con alcohol absoluto hasta que las secciones no pierdan más color.

13. Aclaramiento en xilol y bálsamo.

Este método, sumamente inconstante y engorroso, presenta las neurofibrillas teñidas de color violado y algo granulosas. Se ha aplicado preferentemente al cerebelo, bulbo y médula. En los demás órganos da preparados demasiado pálidos y poco expresivos.

Proceder de Donaggio. — Actualmente se prefiere este método al de Bethe, por ser más constante y dar coloraciones más finas é intensas. Discrepa del de Bethe en varios particulares, sobre todo en la substitución de la fijación nítrica con la fijación en piridina.

He aquí el *modus operandi:*

1.° Las piezas se sumergen en fresco, durante cuatro ó seis días, en piridina pura.

2.° Lavado en agua durante varias horas para extraer el reactivo.

3.° Inmersión de las piezas en la solución de molibdato amónico al 4 por 100, á la que se añade una gota de ácido clorhídrico. Aquí permanecerán veinticuatro horas.

4.° Lavado, por varios minutos, en agua destilada é inclusión en parafina, según el proceder conocido.

5.° Los cortes, que deben ser de 3 á 7 μ, se pegan al porta-objetos con agua destilada y se desparafinan y deshidratan á la manera ordinaria.

6.° Llévanse después, puestos en porta-objetos y cubiertos de una gota de agua destilada, á la estufa mantenida á 40°. El tiempo de esta inmersión oscila entre quince segundos y un minuto.

7.° Inmersión de los cortes en solución de tionina al 1 por 10.000 durante cinco á treinta minutos. En este líquido adquiere el preparado tinta violácea rojiza. Puédese ya deshidratar, aclarar y montar; pero el autor recomienda un nuevo pasaje por el molibdato en esta forma:

8.° Lavado de los cortes, por algunos segundos, en agua; acción del alcohol durante segundos también; nuevamente agua, renovada con rapidez, y finalmente inmersión, por quince minutos, en la solución de molibdato.

9.° Lavado, deshidratación, montaje.

Las neurofibrillas se dibujan mejor que en los preparados de Bethe, pero la reacción es también inconstante, dependiendo de la habilidad que se tenga en mantener en los cortes justamente la cantidad de molibdato precisa para que tenga lugar la acción mordiente, sin dejar reactivo en exceso, que provocaría precipitados irregulares. Por lo demás, este proceder no da resultados aceptables sino en la médula espinal y bulbo. En el cerebelo, cerebro, etc., es rarísimo obtener un preparado conveniente y comparable á los que se logran facilísimamente con el proceder del nitrato de plata.

B. *Impregnación argéntica de las neurofibrillas.* — Los procederes de impregnación argéntica llevan enorme ventaja, por la claridad y limpieza de la coloración, á todos los métodos de las anilinas; en general, son también más sencillos y constantes. Conócense hoy tres: el de Simarro, el de Bielschowsky y el nuestro.

Proceder de Simarro. — A este distinguido psichiatra correspon-

de el mérito de haber coloreado por primera vez las neurofibrillas, mediante las sales de plata, reducidas á favor de los desenvolvedores fotográficos. Aunque por lo inconstante y engorroso se emplea hoy poco este proceder, merece conocerse, no sólo por la originalidad de la reacción en que se funda, sino por representar el punto de partida de otros métodos de impregnación argéntica más seguros y excelentes.

1.° Se comienza por envenenar un animal (generalmente el conejo) con bromuro ó yoduro de potasio. El envenenamiento debe ser crónico, durando ocho á quince días, y se efectuará mediante inyección subcutánea diaria de medio á un gramo de reactivo (según el peso del animal). Cuando comiencen las parálisis, se sacrifica el animal, y los trozos de médula ó bulbo raquídeo se sumergen en el cuarto obscuro en

Nitrato de plata.....	1 gramo.
Agua destilada.....	100 —

De esta suerte, además de los cloruros y albuminatos correspondientes, se producirán dentro de las células nerviosas bromuros y yoduros de plata muy sensibles á la luz.

2.° Después de cuatro á doce ó quince días de permanencia de las piezas en el cuarto obscuro, se sacarán (también á la luz roja) del nitrato y se indurarán en alcohol.

3.° Tras veinticuatro á cuarenta y ocho horas de acción del alcohol, se incluirán en celoidina. Las secciones, ejecutadas también en el cuarto obscuro fotográfico, se llevarán á una cubeta con agua, y se expondrán á la luz hasta que se vuelvan amarillas.

4.° Reducción de los cortes en cualquiera de los reveladores fotográficos (mezcla de sulfito, pirogálico y amoníaco, etc.).

5.° Lavado, deshidratación y montaje.

Las neurofibrillas aparecen coloreadas, por lo común, en marrón claro, tanto en las células nerviosas de gran talla, como en las medianas. Si el teñido es demasiado obscuro, empléase como rebajador el líquido de Gram y después el hiposulfito de sosa. La reacción depende verosímilmente de la formación, al nivel de las neurofibrillas, de un compuesto de bromuro ó yoduro de plata (según el veneno empleado), susceptible de ser reducido mediante la luz y los reductores.

Método del nitrato de plata reducido. — Las fórmulas usadas actualmente por nosotros son varias, pero las más provechosas son las siguientes:

Fórmula primera. — Ha sido ya descrita en la técnica general. Aquí recordaremos sus momentos principales:

1.° Piezas de 3 milímetros de espesor se sumergen, durante tres á cinco días, en nitrato de plata al 1'50 por 100. Estufa á 35°. La cantidad de líquido debe ser abundante con relación á las piezas. La adición de un 10 á 20 por 100 de alcohol puede, en algunos casos, ser conveniente.

2.° Inmersión de los bloques, previo rápido lavado en agua destilada, en este líquido, donde permanecerán veinticuatro horas:

Ácido pirogálico ó hidroquinona.....	1 á 2 gramos.
Formol.....	5 á 10 —
Agua.....	100 —

3.° Lavado rápido en agua destilada, induración en alcohol, celoidina y cortes de mediano espesor.

Esta fórmula produce sobre todo buenos resultados en los embriones y animales recién nacidos y jóvenes (médula, bulbo, cerebelo y ganglios) y en el cerebelo y cerebro de los adultos. También es aplicable á los invertebrados, singularmente al *hirudo,* donde impregna magníficamente las recias neurofibrillas de las células gangliónicas; pero en este caso debe aumentarse la proporción de nitrato de plata al 6 por 100.

Fórmula segunda. — 1.° Fíjanse las piezas durante veinticuatro horas en alcohol de 40° ó absoluto. La adición al alcohol de un hipnótico (veronal, hidrato de cloral, etc.) acelera el tiempo de permanencia en la estufa y acaso acrecienta la constancia y regularidad de la reacción. Así, tras de la acción del alcohol 50, veronal 1, el baño argéntico debe obrar solamente cinco días.

2.° Trasládanse, reducidas á trozos de 2 milímetros y medio de espesor, á la solución de nitrato de plata al 1'50 por 100, donde permanecerán de cinco á siete días. Estufa de 28 á 35°.

3.° Previo lavado rápido en agua, se sumergen en el reductor susodicho.

Esta fórmula colorea espléndidamente los cilindros-ejes medulados y amedulados y muchas arborizaciones nerviosas pericelulares.

Nuestras investigaciones y las de Tello prueban que la fórmula alcohólica impregna muy bien las terminaciones nerviosas motrices y sensitivas (corpúsculos de Pacini, Meissner, Krause, Meckel, etc.). Los mejores efectos se obtienen en el cerebro y cerebelo.

Fórmula tercera.— Igual que la anterior, sólo que en vez de fijar las piezas en alcohol puro, se fijan en

Alcohol absoluto.....	50 cent. cúb.
Amoníaco	5 á 10 gotas.

El tiempo de permanencia en el nitrato será también de cinco á

siete días; varía asimismo con la dimensión de los bloques y la temperatura de la estufa.

Conviene especialmente esta fórmula para colorear las neurofibrillas de la médula espinal y ganglios de los animales recién nacidos. También en el cerebelo y gran simpático suministra bellos resultados. En el cerebro adulto debe rebajarse el amoníaco á 2 ó 3 gotas. En fin, cuando el fijador es débilmente alcalino (1 á 3 gotas por 50 centímetros cúbicos de alcohol), dicha fórmula es aplicable asimismo á las terminaciones nerviosas periféricas.

Los procederes que acabamos de exponer han sido usados con éxito, sobre todo el primero y el tercero, por diversos autores (van Gehuchten, Michotte, Lugaro, van der Stricht, Besta, Azoulay, Nageotte, Marinesco, Held, v. Lenhossék, Dogiel, O. y H. Rossi, Levi, Dustin, etc.); pero hay otras fórmulas que convienen en casos especiales.

Proceder á la piridina.— La piridina ha sido aconsejada por Lugaro y Held como fijador de las piezas destinadas al método del nitrato de plata reducido.

He aquí la fórmula que nosotros usamos para el estudio de la neurogénesis:

1.° Las piezas son inmergidas por veinticuatro horas en piridina pura.

2.° Lavado, cambiando varias veces el agua, durante seis horas.

3.° Alcohol de 96° por seis á doce horas.

4.° Lavado rápido en agua destilada para extraer el alcohol.

5.° Nitrato de plata al 1'50, en estufa á 35°, por cuatro á cinco días.

6.° Reducción en el baño piro-formólico.

7.° Alcohol, celoidina ó parafina, etc.

Esta fórmula da, sobre todo, buen resultado en los embriones y nervios en vías de regeneración. En el adulto tiñe de preferencia las fibras nerviosas finas y las ameduladas.

En los animales jóvenes y adultos y, en general, cuando las piezas son algo voluminosas, la piridina produce graves deformaciones y vacuolas en la substancia gris. Para evitarlas, sustitúyese la piridina pura por: alcohol, 20; piridina, 40. Una solución de piridina en agua al 50 por 100, da también buenos resultados. Con esta modificación hemos trabajado de preferencia durante estos últimos años con ocasión de nuestras investigaciones sobre la degeneración y regeneración de los centros nerviosos (1). Las piezas se lavan también, durante horas, para descartar la piridina. La acción del nitrato de plata caliente (estufa á 35°), no pasará de cuatro días; si la temperatura llega á 40°, bastarán tres días.

(1) Véase *Cajal:* Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. Dos volúmenes. Madrid, 1914.

Fijación al hidrato de cloral. — Una excelente coloración de las placas motrices, arborizaciones pericelulares de los centros, cerebelo, etc., se obtiene fijando las piezas en hidrato de cloral (al 10 por 100) en vez de la piridina. Lavado ligero en agua destilada y alcohol amoniacal (alcohol, 50; amoníaco, 4 gotas) por veinticuatro horas. Las demás operaciones como en las fórmulas precedentes.

Método de Bielschowsky. — Este proceder es excelente para la coloración de las neurofibrillas del cerebro humano. Su ventaja más preciada consiste en que puede aplicarse á los cortes, que se tiñen con regularidad.

He aquí la fórmula última propuesta por el autor del método:

1.° Fijación en formol al 12 por 100 y cortes con microtomo de congelación.

2.° Veinticuatro á cuarenta y ocho horas en nitrato de plata al 2 por 100.

3.° Algunos minutos (quince á veinte) en un nitrato de plata amoniacal, preparado del siguiente modo: á 5 cent. cúb. de nitrato al 10 por 100 se añaden 5 gotas de una disolución de sosa al 40 por 100 y el precipitado que se forma se disuelve con la menor cantidad posible de amoníaco.

4.° Formol al 20 por 100, durante veinticuatro horas, después de un rápido lavado en agua destilada.

5.° Virado con baño de oro (3 gotas de solución de cloruro de oro al 1 por 100 en 10 cent. cúb. y 2 á 3 gotas de ácido acético) ó platino.

6.° Fijación en hiposulfito al 5 por 100, al que se añade una gota de sulfito á saturación si se ha empleado el oro. Lavado abundante.

7.° Alcohol, bálsamo, etc.

Nueva modificación del método de Bielschowsky (1908):

1.° Fijación en formol al 20 por 100.

2.° Lavado en agua por varias horas.

3.° Piridina pura, de veinticuatro á cuarenta y ocho horas.

4.° Lavado en varias aguas destiladas hasta que desaparezca el olor (veinticuatro horas ó más).

5.° Secciones con el microtomo de congelación.

6.° Inmersión de los cortes por veinticuatro horas en la solución al 3 por 100 de nitrato de plata.

7.° Breve lavado en agua destilada.

8.° Inmersión de los cortes durante media hora en esta solución de nitrato de plata amoniacal:

Solución de nitrato de plata al 20 por 100.....	5 cent. cúb.
Lejía de sosa al 40 por 100.....	5 gotas.

El precipitado se disuelve añadiendo gotas de amoníaco; procúrese

que no haya exceso de éste. Añádese después 20 cent. cúb. de agua destilada.

9.° Inmersión de los cortes, durante algunos segundos, en agua destilada.

10. Reducción en la solución al 20 por 100 de formol.

En vez de cortar después de la inmersión en piridina, Doinikow propone seccionar primero, y llevar los cortes, durante veinticuatro horas, á la piridina. La inmersión en el primer baño de plata se prolonga dos, cuatro ó seis días.

Coloración del aparato de Golgi-Holmgren del protoplasma nervioso. — *Método de Golgi-Veratti.* — En un principio usó Golgi, para colorear dicho aparato, una variante de su método al cromato de plata; esta variante técnica ha sido modificada por Veratti.

He aquí el nuevo método:

1.° Trozos de tejido nervioso se abandonan por veinte á treinta días en este líquido:

Solución de bicromato de potasa al 5 por 100.	2 gramos.
— de cloruro, de platino y de potasio al 1 por 1.000.....	2 —
Ácido ósmico al 1 por 100.....	1 ½ á 2 —

2.° Reducidas á pequeños fragmentos, se llevan las piezas á este líquido, donde permanecen de dos á tres días:

Solución de bicromato de potasa al 5 por 100...	3 gramos.
Sulfato ó acetato de cobre al 5 por 100.....	1 —

3.° Inmérgense las piezas en una solución de nitrato de plata al 1 por 100, que actuará cuarenta y ocho horas.

4.° Deshidratación y cortes como en el método de Golgi.

Método de Kopsch. — Consiste en sumergir las piezas frescas, durante una semana ó más, en una solución de ácido ósmico al 2 por 100. Lavado de los bloques, alcoholes, inclusión en parafina, etc. Las secciones, que deben ser muy finas, revelan en el protoplasma nervioso cordones y fibras negros, que corresponden al corte del aparato tubular.

Este proceder ha sido mejorado por Sjöwall (1905) de la manera siguiente:

1.° Fijación de las piezas, durante ocho horas, en solución de formol al 25 por 100.

2.° Lavado por una hora.

3.° Durante dos días déjanse las piezas en ácido ósmico al 2 por 100, que deberá actuar en estufa á 35°.

4.° Lavado, inclusión en parafina, etc., etc.

Coloración del aparato de Golgi-Holmgren por el nitrato de plata. — El método de nitrato de plata reducido da también, en determinadas condiciones, buenos resultados.

La fórmula primera, sin fijación (nitrato al 3 por 100), sólo rara vez tiñe el aparato endocelular de Golgi en los vertebrados; en cambio, en algunos invertebrados (Sánchez) y, sobre todo, en la lombriz de tierra, suministra resultados muy constantes, impregnando muy selectivamente dicho aparato en los elementos epitélicos, glandulares y nerviosos.

Para los vertebrados recién nacidos ó jóvenes (perro, gato, etc.), nosotros usamos de preferencia la fórmula siguiente, que no tiñe las neurofibrillas:

1.° Fijación de las piezas por veinticuatro horas en:

Acetona	25 gramos.
Formol	25 —
Amoníaco	1 á 2 gotas.

2.° Lavado de las piezas en agua corriente durante dos á cuatro horas.

3.° Inmersión de las mismas por un día en:

Alcohol de 96°	50 gramos.
Amoníaco	5 gotas.

4.° Lavado en agua destilada por algunos segundos é inmersión, durante cinco días, en nitrato de plata al 3 por 100 (estufa á 35°). Las demás operaciones (reducción, etc.), como en nuestras fórmulas de coloración de las neurofibrillas.

Método del nitrato de plata modificado por Golgi. — Recientemente (1908), Golgi ha transformado nuestro proceder del nitrato de plata, acomodándolo á la impregnación exclusiva del retículo intraprotoplásmico.

La siguiente fórmula, ensayada por Collin, Luciani, Vechi, Brugnatelli, Perroncito, Luna, etc. (1909 á 1913), parece bastante constante, teniendo sobre los demás procederes la ventaja de la rapidez:

1.° Fijación, durante seis á ocho horas, en

Formol al 20 por 100	30 gramos.
Solución saturada de ácido arsenioso	30 —
Alcohol de 96°	30 —

2.° Las piezas se llevan á una solución de nitrato de plata al 1 por 100, donde permanecerán desde trece horas á varios días.

3.º Después de un lavado rápido en agua destilada, redúcense las piezas en

Sulfato de sosa	5	gramos.
Hidroquinona	50	—
Agua destilada	1.000	—

4.º Previo lavado rápido en agua, induración, inclusión y cortes, Golgi añade algunas otras operaciones que no son necesarias, pero que hacen destacar mejor la impregnación. Son las siguientes:

5.º Virado en dos soluciones:

Solución A	Hiposulfito de sosa	30	gramos.
	Sulfocianuro de sodio	30	—
	Agua	1.000	—
Solución B	Cloruro de oro al 1 por 100.		

6.º Rebajador de intensidad. Después de lavados, sométense los cortes por algunos segundos á este rebajador:

Permanganato potásico	0'50	gramos.
Ácido sulfúrico	1	—
Agua destilada	1.000	—

7.º Lavado de los mismos en ácido oxálico al 1 por 100, y después en agua destilada.

8.º Coloración en *Carmalaun*. Lavado, etc.

Proceder de Cajal al urano-formol. — Es el mismo que dejamos descrito más atrás, con dos variantes:

1.ª La fijación en el licor uránico durará solamente de ocho á doce, lo más catorce horas.

2.ª Se escogerán centros nerviosos pertenecientes á animales que no pasen de uno á dos meses. Las más bellas y completas impregnaciones del aparato de Golgi obtiénense en el gato y perro de quince á veinticinco días.

Excusado es decir que se consiguen también preparaciones aceptables en los demás tejidos (epitelio conectivo, glándulas, etc.), como lo prueban los ensayos de Tello, Sánchez, Fañanás y nuestros.

CAPÍTULO XXX

TEJIDOS COMPUESTOS

Tejido glandular.

Definición. — Se llama *tejido glandular* la trama compleja ofrecida por ciertos órganos huecos, grisáceos, notablemente vasculares y cuya función es elaborar ó filtrar determinados productos que se vierten, por lo común, en las superficies libres del organismo.

Anatómicamente, el tejido glandular representa la reunión, bajo la forma de membrana replegada, de tres tejidos: el *epitelial,* que reviste el interior y constituye el elemento activo; el *conectivo,* que engendra una trama de unión y soporte de los divertículos glandulares, y el *vascular,* dispuesto en red apretada de capilares en torno del epitelio ó de su membrana basal.

Caracteres macroscópicos. — Son las glándulas órganos huecos, semiblandos, de color gris rojizo, de forma más ó menos redondeada y provistos, en su mayor parte, de uno ó varios conductos excretores destinados á conducir á una superficie mucosa ó tegumentaria el líquido segregado. Residen las glándulas cerca de la piel y mucosas, á veces en pleno dermis, disponiéndose en divertículos más ó menos complejos que hacen relieve hacia lo profundo. Algunas glándulas, sin embargo, modificaron tanto su posición durante la época embrionaria, que perdieron casi del todo las primitivas relaciones con las membranas de origen (hígado, páncreas, riñones, etc.).

Clasificación. — Las glándulas no son, en último análisis, sino repliegues membranosos producidos durante el desarrollo por sucesiva y gradual invaginación de una hoja blastodérmica.

Como es natural, para cada especie glandular varía notablemente la forma de este repliegue, así como las metamorfosis sufridas por el epitelio que interiormente lleva. Y este modo de replegamiento se conserva indefinidamente, marcando con sello especial la morfología de los divertículos glandulares. De aquí que semejante carácter haya sido elegido por los histólogos como principio para la clasificación de las glándulas.

Todas las glándulas se agrupan en cuatro clases: glándulas *tubulosas, arracimadas, vesiculares* y *macizas* ó sin hueco secretor *(vasculares sanguíneas)*. Desígnanse *tubulosas* aquellas en las cuales los tres factores constitutivos, membrana conectiva, epitelio y red vascular, se disponen en forma de tubo cerrado por un extremo; las *arracimadas* son las que adoptan el aspecto de divertículo más ó menos alargado y sostenido por un pedículo ó parte más estrecha; las *vesiculares* las que constan de cavidades esferoidales no comunicantes ó sólo accidentalmente comunicantes con superficies libres; en fin, las *macizas ó vasculares sanguíneas* se disponen en cordones epiteliales compactos anastomosados entre sí.

La primera clase consiente una agrupación natural en tres géneros, según la mayor ó menor complejidad de la construcción tubular: glándulas *tubulosas simples, compuestas* y *reticulares*. Las primeras constan de un solo tubo abierto individualmente en superficie libre; las segundas se componen de varios tubos convergentes en uno ó muchos *(conductos excretores)*; y las terceras encierran conductos que, antes de desaguar en los excretores ó excretor, se anastomosan entre sí formando redes complicadas.

La segunda clase ó las llamadas glándulas arracimadas, comprenden dos géneros: *arracimadas simples* ó de un solo racimo, y *arracimadas compuestas* ó construídas de varios *acini* concurrentes en uno ó en algunos tallos de desagüe *(conductos excretores)*.

Por último, las *vesiculares* se dividen en *completas* cuando la cavidad se conserva siempre cerrada, é *incompletas* cuando la vesícula puede romperse accidentalmente y verter su contenido en un conducto excretor.

He aquí el cuadro que presenta gráficamente la clasificación:

- *Las glándulas se agrupan en.....*
  - Tubulosas.....
    - Simples.....
      - Sudoríparas y ceruminosas.
      - Pépsicas.
      - Intestinales ó de Lieberkühn.
      - De Bowman ó nasales.
      - Uterinas.
      - De Moll y las de Henle de la conjuntiva, etc.
    - Compuestas. Riñón.
    - Reticuladas..
      - Hígado.
      - Testículo.
  - Arracimadas..
    - Simples.....
      - De Meibomio.
      - Sebáceas.
      - De Brunero.
      - Mucosas, etc.
    - Compuestas..
      - Lagrimal.
      - Mamaria.
      - Salivares.
      - Próstata.
      - De Cooper.
      - Páncreas, pulmón, etc.
  - Vesiculares....
    - Completas...
    - Incompletas..
      - Tiroides.
      - Ovario.
  - Macizas ó desprovistas de hueco secretor.....
    - Timo.
    - Suprarrenal.
    - Paratiroidea.
    - Hipófisis.
    - Epífisis.
    - Gl. carotídea, etc.

Caracteres micrográficos. — Cada glándula contiene, como hemos dicho, un *epitelio,* una *membrana hialina* y la trama *conectivo-vascular*. El *epitelio* forma generalmente una sola capa que limita la cavidad glandular y se continúa con la superficie libre de la mucosa ó piel donde se vierte el material segregado.

Las células glandulares son, ordinariamente, cúbicas ó poliédricas y poseen: una cara externa ó *polo nutritivo,* por el cual se ponen en relación con el tejido conectivo, capilares y nervios; una cara interna ó *polo secretor*, limitante del hueco glandular; y caras laterales ordinariamente en contacto con las células compañeras. Estas caras laterales pueden ofrecer también, en

algunas glándulas, canales ó resquicios enlazados con la luz glandular.

La estructura de las células glandulares varía algo en cada especie. En general, carecen de membrana ó la poseen notablemente fina, albergan un protoplasma turbio abundante, donde residen los materiales de secreción, visibles á menudo bajo la forma de gránulos ó de vacuolas claras, y encierran núcleo de figura redondeada y alojado comunmente cerca del polo nutritivo; en algunos corpúsculos glandulares existen, además de un sistema de senos comunicantes intraprotoplásmicos (aparato reticular de Golgi-Holmgren), ciertos divertículos abiertos en los conductos secretores.

Por debajo del epitelio, entre éste y los capilares, algunas glándulas presentan la *membrana glandular* ó *basal,* película anhista, elástica, resistente, que, después de revestir los divertículos secretorios, se continúa consigo misma en todo el espesor de la glándula, á cuyas cavidades presta su característica configuración. Aunque esta cutícula parece amorfa en muchas glándulas, en otras se halla formada de fascículos conjuntivos muy finos y apretados. El *tejido conectivo* laxo rellena todos los huecos que median entre los *tubuli* ó *acini* glandulares, y contiene la red capilar y los plexos nerviosos. La forma de la red vascular se subordina á la del hueco glandular; así, es tubuliforme en las cilíndricas, sacciforme ó piriforme en las acinosas y vesiculares. La red yace inmediatamente por fuera de la membrana, lo más cerca posible de las células. Esta red es tanto más fina y tupida cuanto más activo es el órgano secretor; *verbi gratia:* el hígado y el pulmón, glándulas de función continua, la poseen apretadísima, y mucho más floja las glándulas salivares, cuya actividad es intermitente.

Expuestos estos antecedentes, pasemos ahora á describir sucintamente los tipos más importantes de cada género glandular.

a) **Arracimadas simples.** — El tipo de éstas son las glándulas sebáceas. Yacen en el dermis cutáneo, por fuera del folículo piloso, dentro de cuya cavidad vierten el líquido segregado. Cada folículo piloso posee comunmente dos glándulas, cuyo tamaño varía un tanto en las diversas especies de pelos (fig. 443, A).

Los *acini* glandulares constan de varios lóbulos ó granos alargados, sostenidos por pedículos anchos y confluentes en un conducto excretor más angosto y de gruesas paredes. Aquí, como en toda glándula, conviene distinguir la porción *excretora* de la *secretora*. La secretora ó fondo glandular consta de un revestimiento exterior hialino y de una formación epitelial gruesa,

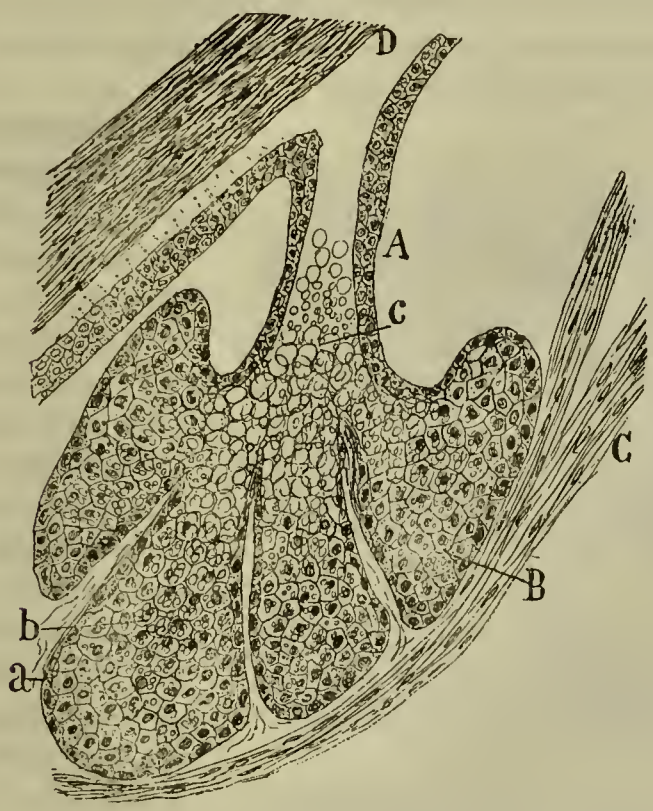

Fig. 443. — Glándula sebácea de la piel del cráneo. — A, conducto excretor; B, vesícula glandular; C, músculo *arrector pilorum;* D, pelo; *a,* célula periférica sin grasa y con núcleo obscuro; *b,* células centrales con gotas grasientas.

compuesta de cinco ó seis capas celulares superpuestas, que á menudo ciegan la cavidad de cada divertículo glandular. Examinando atentamente estas células, se advierte que no son todas iguales: las de la primera capa, es decir, las que tocan á la membrana hialina, son aplanadas *(a),* poseen un protoplasma opaco y granuloso y se tiñen intensamente por el carmín: en tanto que las de las demás hileras son gruesas, poliédricas, claras, poco co-

lorables por el carmín *(b)*, y albergan multitud de gotas grasientas, tanto más abundantes cuanto más próximas se hallan aquéllas á la luz glandular. Obsérvase que el núcleo de los elementos de la primera zona se colora bien por las anilinas, presentando alguna vez carioquinesis, mientras que el de las células grasientas apenas se tiñe, poseyendo escasos gránulos cromáticos. El producto de secreción resulta de la disgregación de los elementos grasientos más concéntricos, cuya grasa, puesta en libertad, se junta en masa coherente (fig. 443, *c*).

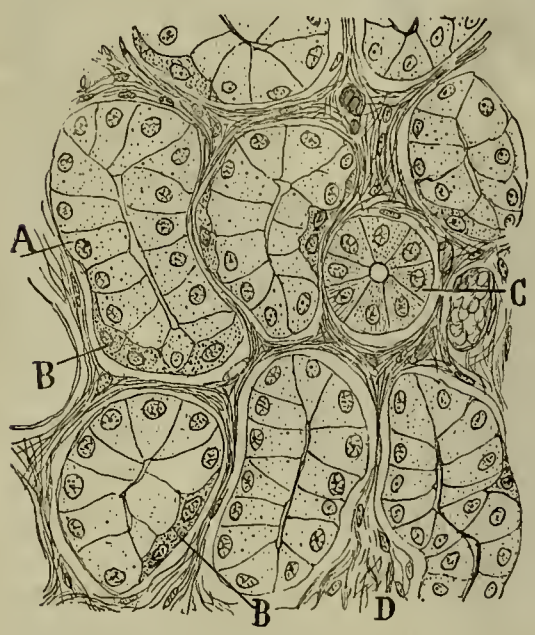

Fig. 444. — Glándula submaxilar del perro.— A, célula clara ó mucosa; B, células turbias ó semilunas de Giannuzzi; D, estroma conectivo; C, tubo excretor con células estriadas.

b) **Glándulas arracimadas compuestas.**— Las principales son las salivares, el páncreas y el pulmón.

Glándulas salivares. — Las glándulas submaxilar, sublingual y parótida de los mamíferos no están construídas exactamente sobre el mismo plan, ni poseen idénticas funciones. Según Landowsky, la glándula submaxilar del gato, la sublingual del perro, conejo y hombre, segregan una saliva viscosa *(glándulas salivares mucosas)*, y poseen dos tipos de células glandulares, como luego veremos; mientras que la glándula parótida del hombre y mamíferos elabora una saliva serosa *(glándulas salivares serosas)* y presenta una sola especie de células glandulares.

Cuando se observa al microscopio un corte fino de la glándula submaxilar del perro ó del gato, nótase que está construída de vesículas glandulares alargadas, prolongadas en unos conductos más estrechos, casi rectilíneos, los cuales desaguan de un modo

convergente en el extremo de un tubo excretor. El epitelio secretor llena casi todo el hueco de las vesículas, en torno de las cuales no se observa membrana propia, sino una trama conectiva intersticial, portadora de los capilares y de las fibras nerviosas.

Un examen atento del epitelio de las vesículas, revela dos zonas: una periférica, turbia, discontinua, granulosa, colorable por el carmín, y constituída por células sueltas ó grupitos de células modeladas en semilunas (fig. 444, B), (*semilunas* de Giannuzzi); otra, central, continua, pálida, incolorable por el carmín y engendrada por corpúsculos robustos y poliédricos, los cuales limitan la luz glandular. Estas células tienen cubierta aparente, núcleo confinado cerca del polo nutritivo, y un protoplasma claro, reticulado, cuyas mallas alojan granos de secreción. Los trabajos de estos últimos años han revelado también la presencia de mitocondrias (fig. 446, B) y del retículo de Golgi.

Fig. 445. — Corte de un trozo de la glándula submaxilar de gato. Coloración de los conductos glandulares por el cromato argéntico. — A, células claras ó mucosas; B, conducto excretor; C, conducto excretor del que parten pedículos para varios lobulillos; *a*, células semilunares que alojan un penacho de ramificaciones del tubo glandular.

La significación de las células obscuras ó periféricas (semilunas de Giannuzzi), se ha discutido mucho. Quienes, como Heidenhain, estiman dichos elementos como la fase embrionaria de las células claras, las cuales se destruirían durante el acto secretorio; quienes, como Stöhr, las consideran como elementos adultos, pero en fase de reposo.

Como nosotros hemos demostrado (1) y han confirmado Retzius y otros, el cromato de plata tiene la propiedad de depositarse

(1) *Cajal:* Nuevas aplicaciones del método de Golgi. *Gaz. Med. Catalana.* Barcelona, 1889.

en el interior de los tubos glandulares, revelando minuciosamente sus más delicadas ramillas. En las glándulas salivares serosas, como la parótida, del conducto central de cada vesícula parten tubitos que se insinúan entre las caras laterales de las células claras ó mucosas, terminándose en fondos de saco, no lejos de la periferia del folículo ó vesícula glandular; pero en las glándulas mucosas salivares, como la submaxilar del perro y gato, además de estos tubitos terminales, existen otros más gruesos que, después de atravesar el epitelio claro, se descomponen en un penacho de ramitos terminales, alojados, precisamente, en el espesor de las células semilunares (fig. 445, *a)*. Las ramitas más periféricas de este penacho tocan casi la superficie exterior de las semilunas. Como se ve, semejante disposición, entrevista por nosotros, pero mejor estudiada por Retzius, establece una diferencia bien rigurosa entre ambas especies celulares, haciendo verosímil la opinión de que los elementos semilunares representan células adultas específicas absolutamente constantes, encargadas de elaborar algún principio especial de la saliva. Cosa análoga sucede, como más adelante veremos, en las glándulas pépsicas.

Recientes estudios (1914) efectuados con ayuda del método del nitrato de plata reducido (fórmula al urano-formol) parecen demostrar una relación estrecha entre el acto secretorio y la destrucción del aparato de Golgi. Y como la fase fisiológica no es la misma en todos los *acini*, ni siquiera en los elementos de una vesícula, de ahí que la plata revele notable variedad de aspectos estructurales, difíciles de interpretar. Parece, sin embargo, probable que, durante el estadio de producción de granulaciones, y cuando las mitocondrias son aparentes (fig. 446, B), el citado aparato reticular se disgrega, acabando por destruirse y acaso eliminarse; mientras que la fase de reposo (células sin granitos aparentes) se caracteriza por la presencia de una red espesa, situada, según mostramos en la figura 446, *a*, E, entre el núcleo y la superficie epitelial libre. El estado de transición (D) está representado por células glandulares, cuyo retículo preséntase delgado, pálido y discontinuo en unión de granitos incipientes de secreción.

Los pedículos de las vesículas, así como los tallos que resultan de la convergencia de éstos, poseen un revestimiento epite-

lial aplastado y transparente. De la reunión de estos tubitos se engendran otros más delgados, cilíndricos, de pared conectiva gruesa y cuya característica consiste en contener un epitelio prismático, obscuro y estriado en sentido convergente (figura 444, C). Este epitelio estriado *(epitelio de bastones)* consta, según Solger, Merkel, etc., de filamentos ó bastoncillos parale-

Fig. 446. — Corte de la glándula submaxilar del conejo de un mes. Método del urano-formol. — A, conductos excretores finos; B, vesícula donde la plata impregna solamente las mitocondrias; C, vesícula donde aparecen los granos de secreción; E, vesículas donde se tiñe intensamente el aparato de Golgi; *a*, aparato de Golgi bien desarrollado; *b*, aparato de Golgi en vías de destrucción.

los, separados en su porción interna por granos amarillentos y vacuolas. Según Merkel, semejantes elementos gozan de gran avidez por el oxígeno (se enmorenecen por el ácido pirogálico) y acaso segregan algunas de las sales de la saliva (fig. 446, A).

En las glándulas serosas, como la parótida, las células limi-

tantes de los acini son todas claras. En su protoplasma se hallan unas granulaciones coloreables por la fuchina ácida, las cuales, como demostró primeramente Langley y han confirmado Altmann y E. Müller, disolviéndose durante el período de actividad secretoria de la glándula, contribuyen á formar la saliva parotídea. Según Langley, durante la fase de reposo los corpúsculos se llenan de granitos, es decir, del producto segregado, mientras que durante la fase secretoria dichas esférulas disminuyen en número, conservándose sólo en las zonas más internas de los corpúsculos glandulares.

Páncreas. — Esta glándula, llamada por los alemanes *glándula salivar abdominal,* se considera generalmente como arracimada compuesta; aunque, si hubiéramos de atender á la disposición terminal de los conductos glandulares, quizá habría mayores motivos para estimarla como tubulosa compuesta (fig. 447).

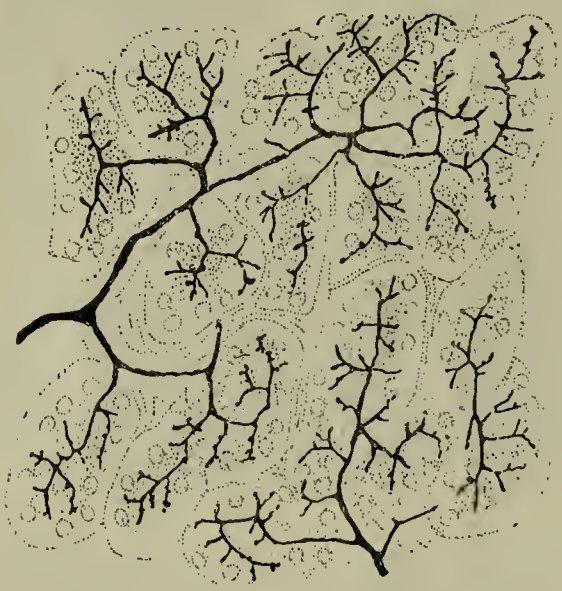

Fig. 447.— Corte de un trozo del páncreas de la rana. Impregnación de los conductos glandulares por el cromato de plata. (Según Cajal y Cl. Sala).

Los acini son alargados, constando de una membrana propia reforzada por tejido conectivo y de un epitelio espeso, turbio, que llena casi por completo la luz glandular.

Este epitelio está representado por una sola hilera de células gruesas, en las cuales se distinguen dos zonas: *interna,* caracterizada por encerrar ciertos granos gruesos, esféricos, constituídos por un fermento que se ha llamado *zimógeno; externa,* más pálida, de aspecto ligeramente estriado y algo coloreable por el carmín. El núcleo reside en la zona externa y no suele mostrar nunca fases mitósicas. En cuanto á los granos de zimógeno, son solubles en agua

y ácido acético, y se coloran por el ácido ósmico, eosina y safranina (fig. 449, F).

Estos granos de zimógeno representan el término de la evolución de granulaciones vivas elementales, que pueden mostrarse por la hematoxilina ferruginosa.

Según Heidenhain, las células glandulares pasan por dos fases funcionales, que duran de seis á ocho horas: 1.ª, ó *fase de reposo,* durante la cual el protoplasma se hincha, su parte interna se llena de gránulos de zimógeno y el lobulillo secretor entero se ensancha (fase de *secreción* de Ranvier); 2.ª, ó *fase de actividad,* durante la cual los granitos de zimógeno se vierten en el líquido segregado, y las células, casi exhaustas de esta inclusión, disminuyen notablemente de volumen (fase de *excreción* de Ranvier). Mezclado el zimógeno con el líquido glandular, fórmase la *tripsina.* Estos dos estados secretorios pueden estudiarse en el conejo vivo (Kühne, Lea).

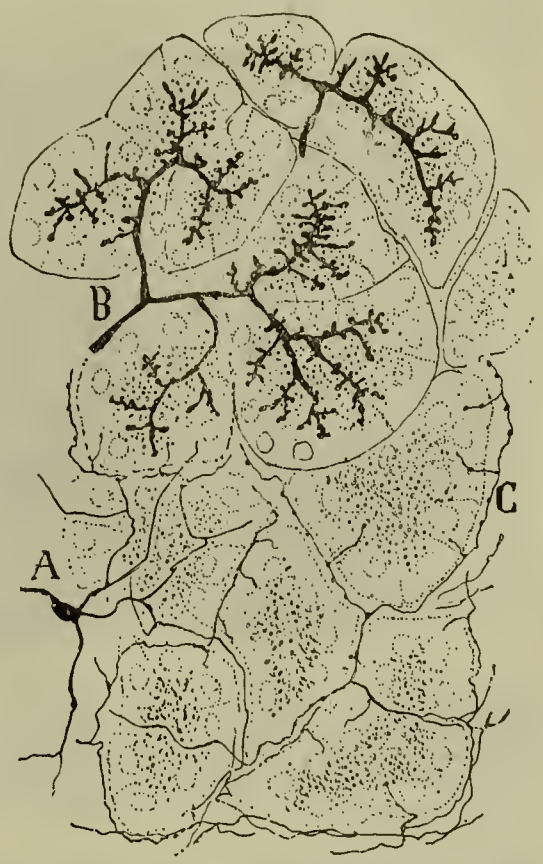

Fig. 448.—Corte del páncreas del erizo. Coloración por el cromato de plata.—A, célula nerviosa intersticial; C, plexo nervioso peri-vesicular; B, tubo glandular y sus ramificaciones. (Según Cajal y Cl. Sala).

Por lo que toca á la disposición terminal de los conductos glandulares, el páncreas recuerda en gran parte las glándulas salivares. Como se nota en las figuras 447 y 448, B, el centro de cada vesícula terminal contiene un conducto del cual parten ordinariamente en ángulo recto ó casi rec-

to, numerosas ramitas, que, después de marchar entre las superficies laterales de los corpúsculos epiteliales, acaban en dilataciones olivares ó redondeadas, sin traspasar jamás la zona de los granos de zimógeno. Cada ramito intercelular de éstos, muéstrase, además, erizado de divertículos redondeados, ampulosos, que parecen ocupar el mismo espesor del protoplasma epitelial, y que corresponden probablemente á las *vacuolas de*

Fig. 449.—Corte del páncreas del conejo de pocos días. Proceder de impregnación del urano-formol.—A, B, vesículas donde se marca bien el aparato de Golgi; D, otra donde este aparato preséntase en vias de destrucción, indicándose las mitocondrias; C, vesícula donde sólo se presentan teñidas las mitocondrias; F, vesícula portadora de granos de zimógeno; E, islote de Langerhans.

secreción mencionadas por Kupffer, L. Pfeifer y Oppel en las células hepáticas.

Semejante disposición, demostrada primeramente por Cl. Sala y nosotros en los peces, aves, batracios y mamíferos (1), ha sido recientemente confirmada por E. Müller y Dogiel. Hay, pues, en el páncreas tres clases de tubos intravesiculares: conducto

(1) S. Ramón Cajal y Cl. Sala: *Terminación de los nervios y tubos glandulares del páncreas de los vertebrados*. Barcelona, 1891.

axial ó central, ramas inter-epiteliales y vacuolas ó divertículos intra-protoplásmicos.

Como en las glándulas salivales, el proceder de impregnación más atrás citado colorea fácilmente el aparato de Golgi de los corpúsculos pancreáticos. Aprécianse también aquí notables diferencias tocantes á la disposición y colorabilidad de este aparato, según el estado funcional. Así, mientras en los elementos claros ó exentos de gránulos marcados, la red se tiñe vigorosamente (fig. 449, A, B), en aquellos otros donde se tiñen mitocondrias y esférulas glandulares es imposible demostrarla (C). A menudo, encuéntranse lobulillos provistos de esferas intraprotoplásmicas (granos de zimógeno), en que la red es todavía perceptible, aunque delgada y en tránsito de solución (D). Estas mutaciones sugieren la idea de que el aparato de Golgi entra por algo en el proceso secretorio, disolviéndose parcialmente en el líquido elaborado para reconstruirse ulteriormente, cuando, pasada la fase de excreción, retorna el protoplasma al estado de turgescencia. En fin, hagamos notar el aspecto que el aparato de Golgi ofrece en los *islotes de Langerhans*, en cuyas células parece constituir órgano perenne é invariable. Esta particularidad representa un argumento más en pro de la especificidad fisiológica de los mencionados islotes (fig. 449, E).

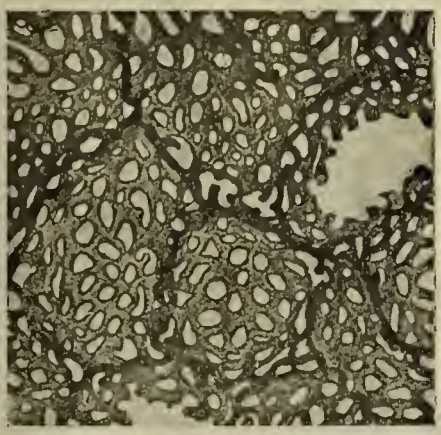

Fig. 450. — Redes capilares de las vesículas pulmonares. (Tomado de Schäfer).

Islotes de Langerhans. — Entre las vesículas del páncreas residen ciertos acúmulos celulares, compuestos de elementos epiteliales poliédricos, apretados, entre los cuales penetra una red capilar muy rica. Son los *islotes de Langerhans* considerados hoy como una glándula vascular sanguínea completamente ajena á la función de los lubulillos pancreáticos.

En la figura 449, E mostramos un corte donde aparece uno de estos islotes. Repárese el aspecto granuloso del protoplasma; la morfología varia de las células, donde dominan los tipos alarga-

dos, y, en fin, un aparato de Golgi perfectamente desarrollado.

Pulmón. — Posee esta glándula, como todas las arracimadas compuestas, un conducto excretor *(tráquea),* que se ramifica repetidas veces *(bronquios y sus ramas)* hasta constituir delgados tubos desprovistos de armadura cartilaginosa *(conductos respiratorios)* y terminados por unas dilataciones piriformes *(infundibulos pulmonares).* Las paredes de estas dilataciones presentan abolladuras hemiesféricas, más ó menos salientes *(vesículas pulmonares),* que corresponden al grano de los acini de las glándulas análogas (fig. 451, C).

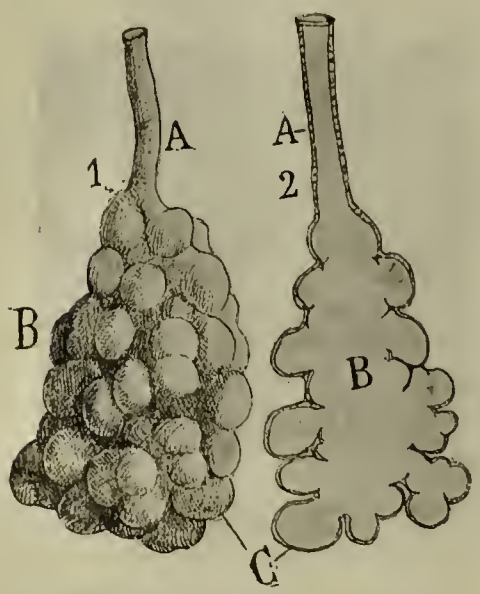

Fig. 451. — Esquema de la morfología de un infundíbulo pulmonar. — 1, infundíbulo visto por fuera; 2, infundíbulo seccionado á lo largo; A, canalículo respiratorio; C, vesícula ó alvéolo pulmonar.

Consta cada vesícula de una *membrana,* una *red capilar* y un *epitelio.* La *membrana* es elástica, hialina y delicadísima; por fuera está reforzada por abundantes fibras elásticas, dirigidas circularmente y acumuladas especialmente en las depresiones intervesiculares del infundíbulo (fig. 453). La *red* capilar (originada por la anastomosis entre las últimas ramas de la arteria y venas pulmonares que se reparten en el contorno de las vesículas), es finísima, apretada, de mallas circulares y de trabéculos tan delgados, que apenas puede pasar por ellos un hematíe; yace esta red por dentro de la membrana (figs. 450 y 452, C), á la que adhiere íntimamente. Por dentro de la red, y limitando la luz glandular, hállase el *epitelio,* de una sola capa, caracterizado por la extrema delgadez de sus células, en un todo análogas á las endoteliales. La porción de éstas, superpuesta á los capilares de la red, es hialina y delgadísima; pero la que corresponde al hueco de la malla es más espesa y turbia y

contiene el núcleo (fig. 452, E). Un endotelio semejante reviste los conductitos respiratorios y el resto del infundíbulo.

Los bronquios gruesos están revestidos por un epitelio vibrátil y de apariencia estratificada, que en los más delgados se presenta constituyendo una sola capa. Además de la mucosa, constan las paredes bronquiales de dos capas más: la fibro-cartilaginosa y la muscular. Los cartílagos corresponden á la variedad hialina, adoptando en los bronquios gruesos la forma de anillos

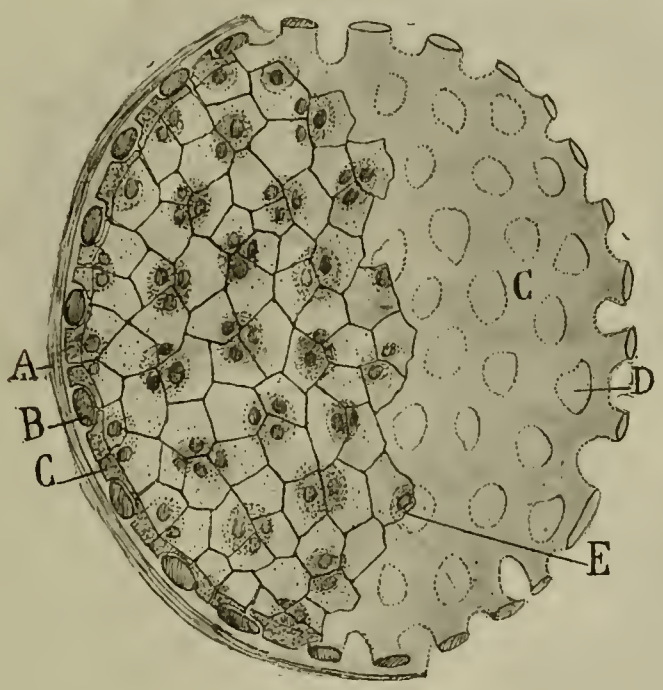

Fig. 452. — Vista de plano y sección de una vesícula pulmonar de la rana. Figura semi-esquemática. — A, membrana glandular; C, epitelio engruesado al nivel de las mallas de la red; B, red capilar; E, parte de célula epitelial que yace sobre la malla; D, malla capilar.

incompletos, y disponiéndose en los delgados (hasta los de un milímetro de diámetro) en chapas irregulares, angulosas, esparcidas por todo el contorno del tubo. Entre las placas cartilaginosas, y envolviéndolas por completo, hállase un tejido fibroso, rico en elementos elásticos. Los elementos musculares son lisos y se disponen en capa floja y plexiforme, situada debajo del dermis de la mucosa, sobre la zona glandular.

c) **Glándulas tubulosas simples.**—Indicaremos sumariamente algunos tipos principales:

Glándulas pépsicas.—Son tubos delgados, de dos á cinco décimas de milímetro de longitud, que atraviesan perpendicularmente la capa mucosa del estómago. Constan de una parte excretora ó *cuello* de la glándula, y de otra secretora ó *cuerpo* y fondo de la misma. La porción excretora está formada por dos

Fig. 453. — Tejido reticular de las paredes alveolares del pulmón. (Según Mall).

clases de células epiteliales: células periféricas *(delomorfas* de Rollet, de *revestimiento* de Heidenhain) gruesas, redondeadas ó irregularmente cuboideas, de considerable tamaño, con protoplasma abundante, turbio y obscuro, que encierra un núcleo casi siempre central; y células pequeñas, cuboideas, claras, mucho más numerosas, de núcleo periférico y de protoplasma finamente reticulado (*adelomorfas* de Rollet, *principales* de Heiden-

hain). Estas últimas constituyen una capa de revestimiento continuo, que se prolonga con el de la porción excretora, mientras que las primeras sólo se muestran acá y allá, de un modo errático, sobresaliendo por su gran tamaño de la superficie general de la glándula (figura 454, *a*). Según Golgi (1909) las células tangenciales ó delomorfas carecen de aparato reticular, mientras que lo tienen bien caracterizado los corpúsculos principales.

Las *células principales* engendran, en los intervalos de la digestión, una substancia, el *pepsinógeno,* la cual es eliminada durante el período de actividad del estómago, convirtiéndose en pepsina. En las preparaciones teñidas por la hematoxilina ferruginosa, aparecen ciertas finas granulaciones, las unidades ó bioblastos secretores, á cuyo cargo corre la formación del pepsinógeno. Las células de *revestimiento* elaboran el ácido clorhídrico (Heidenhain, Sehrwald), quizá descomponiendo los cloruros aportados por la sangre.

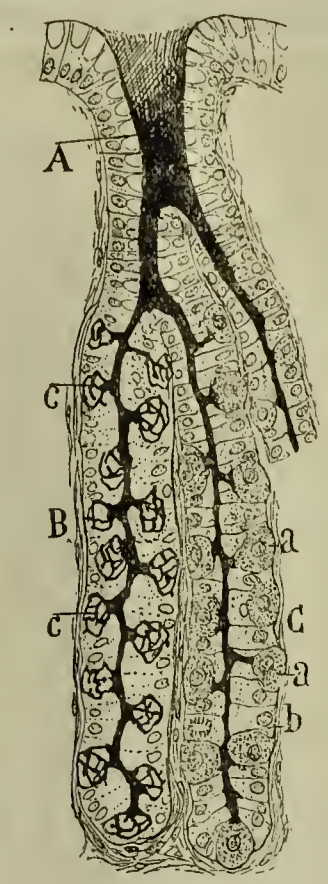

Fig. 454. — Glándulas pépsicas del gato de pocos dias. Coloración por el cromato de plata. — A, conducto excretor; B, porción secretora de la glándula donde aparecen las redes terminales *(c)* yacentes en las células de revestimiento; C, porción secretora de otra glándula donde el cromato de plata sólo impregnó el pedículo que conduce á las redes; *a*, célula de revestimiento; *b*, célula principal.

Los trabajos que E. Müller ha ejecutado hace ya tiempo valiéndose del procedimiento de Golgi, refuerzan la opinión de que las células de revestimiento representan agentes secretores de naturaleza distinta que los corpúsculos principales. Como se ve en la figura 454, *c*, donde representamos un corte vertical de varias glándulas pépsicas del gato, del conducto glandular parten cortos travesaños que salen al encuentro de las células de revestimiento, donde forman una red terminal

de mallas finísimas y poligonales. La red yacería, según E. Müller, por fuera de dichas células; pero, en nuestro sentir, reside en el espesor del protoplasma, si bien ocupa, por lo común, una posición periférica. Algunos pocos ramitos intraprotoplásmicos

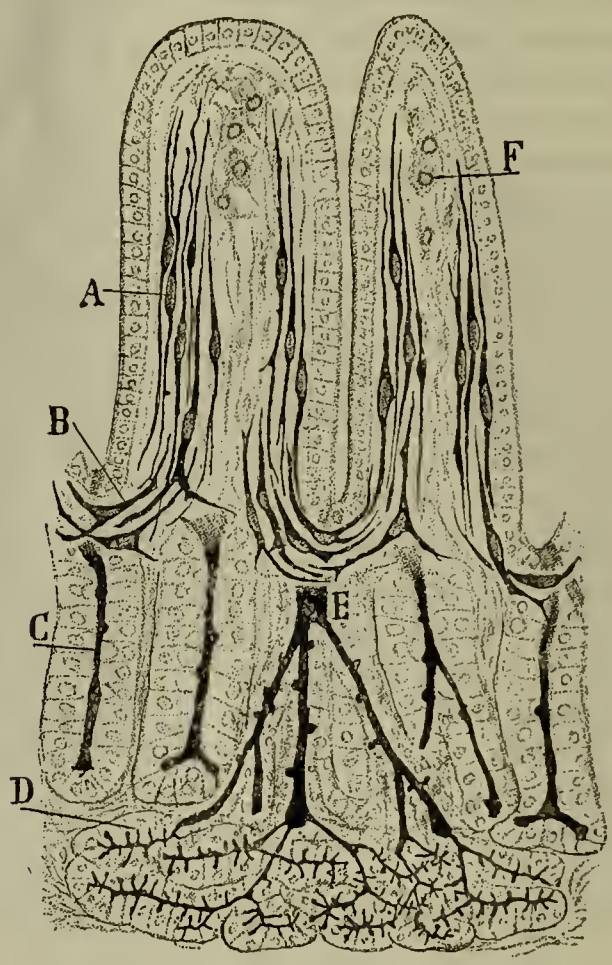

Fig. 455. — Corte de las vellosidades y glándulas del intestino del conejo de Indias de pocos días. – A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta; C, interior de una glándula de Lieberkühn; D, *acini* terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

acaban en fondo de saco. En ciertos cortes, el depósito de cromato sólo dibuja los tallos de unión de las mencionadas redes con el conducto principal (fig. 454, C).

La porción excretora de las glándulas pépsicas es mucho más

ancha y desagua en la superficie estomacal por una abertura infundibuliforme. Por lo común, como se ve en la figura 454, A, cada conductor excretor recibe dos ó más glándulas pépsicas; en dicho conducto el epitelio es prismático, muy alargado y casi todas sus células son caliciformes.

Por fuera de la capa epitelial de la glándula, hállase un tejido conectivo laxo, muy fino y apretado, portador de la malla capilar. La membrana anhista descrita por los autores, nos parece ser simplemente la parte más inmediata á la glándula de dicho tejido conectivo, que se presenta aquí más condensado y fino.

Glándulas de Lieberkühn. — Tienen mucho parecido con las pépsicas, de las que discrepan principalmente por carecer de células *delomorfas* ó de revestimiento. Los fondos de saco que construyen son más cortos, y las células que las limitan aparecen más claras y alargadas. Muchas de ellas sufren la degeneración mucosa, colorándose la parte transformada del protoplasma en violeta intenso por la hematoxilina.

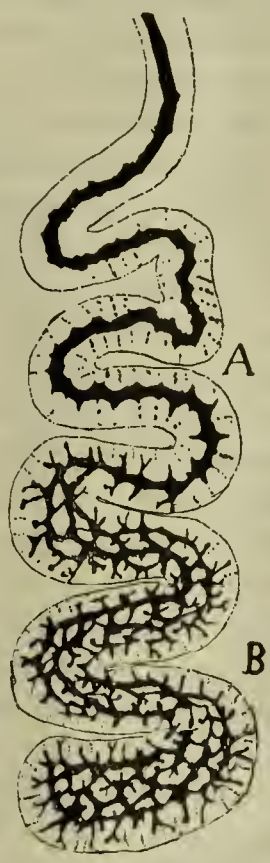

Fig. 456.—Esquema del conducto secretor de una glándula de la piel de las plantas del gato de ocho días. Método doble al cromato de plata. — A, porción superior del glomérulo; B, porción inferior con las redes intersticiales.

En la porción más honda de las glándulas se hallan, según Paneth y Nicolas, unas células especiales llamadas *granulosas,* porque contienen ciertas esferas colorables por la hematoxilina y fuchina ácida. Para Nicolas, estos granitos, que constarían de una porción semilunar safranófila y otra safranófoba, serían expulsados durante el período de actividad de las glándulas.

En las células epiteliales de estas glándulas, así como en las tubulosas del recto, hállanse muchas mitosis: Bizzozero y Va-

sale piensan que semejante movimiento regenerativo obedece á la necesidad de compensar las descamaciones celulares producidas continuamente en la embocadura glandular; las células nuevas irían corriéndose hacia arriba para cubrir el hueco resultante. En fin, las células de las glándulas de Lieberkühn poseen un aparato de Golgi bien modelado.

Las *sudoríparas* y sus análogas las *ceruminosas,* y las de *Moll* de los párpados, son tubulosas, alargadísimas, y por uno de sus extremos se apelotonan en ovillo ó glomérulo. En cada una de ellas hay que considerar la porción secretora ó glomérulo y la excretora. La primera, más ancha, está construída por una capa de células cúbicas, una membrana anhista ó basal y un estrato incompleto de fibras musculares lisas, longitudinales, que presentan la particularidad de alojarse entre la capa basal y el epitelio. La porción excretora comienza ya en el mismo glomérulo, y se caracteriza por ofrecer dos ó tres capas de células epiteliales claras y aplastadas, por carecer de fibras lisas y por la tenue chapa con que la hilera epitelial más concéntrica limita la luz del conducto. En cuanto el conducto excretor abandona la porción apelotonada, atraviesa casi rectilíneamente el tejido conectivo, penetra en el dermis, tomando dirección espiral, y remata en la parte más alta de una cresta epidérmica. En la porción intra-epidérmica, las células epiteliales del conducto sufren los mismos cambios que los corpúsculos de la capa de Malpigio, es decir, que se transforman en *eleidina* y *keratina.*

En el hombre, el conducto central de las sudoríparas parece único; mas en algunos animales, la porción secretora ó profunda de la glándula aloja, además de la luz central, una red de conductos colocados entre las células epiteliales y comunicantes con aquélla (fig. 456).

d) **Glándulas tubulosas compuestas.**—Riñón.—Muestra, á la simple vista, la sección de esta glándula dos substancias: una *medular,* pálida y como fibrosa, dispuesta en conos de base periférica y de vértice interno, asomado en los cálices del riñón, bajo la forma de papila (*pirámides* de Malpigio); y otra *cortical,* rojiza y granujienta, que, á más de circuir á la anterior, se

prolonga entre los conos ó pirámides, alcanzando hasta la pelvis renal (*columnas* de Bertin).

Tanto la trama cortical como la medular constan de tubos, pero el aspecto y dirección de éstos varía para cada una de ellas: en la medular son rectos y paralelos, convergiendo en la papila

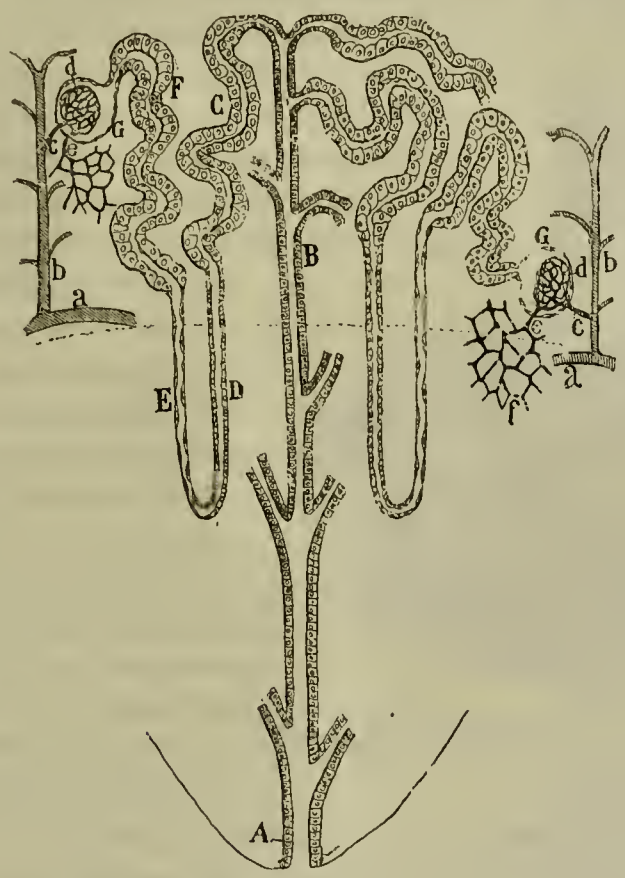

Fig. 457.—Esquema de la forma y dirección de un tubo urinífero. — A, tubo terminado en la papila; B, tubo recto ó de Bellini; C, tubo flexuoso que marcha por la región cortical; E, D, asa de Henle; F, tubo flexuoso; G, cápsula de Müller; *a*, arterias arciformes yacentes entre las capas cortical y medular; *b*, arteriolas de donde salen las ramas aferentes del glomérulo de Malpigio; *d*, glomérulo; *e*, rama aferente; *f*, red capilar intersticial.

(tubos de Bellini); en la cortical son flexuosos y apelotonados, terminando por vesículas dilatadas (*tubos* de Ferrein y *ampollas* de Müller ó de Bowman). En el encuentro de dichas zonas, los tubos rectos de la medular no se tornan flexuosos de una vez, sino á distintas alturas, formando, los que más sobresalen dentro

de la capa cortical, unas eminencias cónicas de base central (*pirámides* de Ferrein).

Examinemos ahora la dirección de estos tubos uriníferos á partir de su extremidad cerrada, es decir, en el sentido de la corriente de la orina. Comienza cada tubo por una vesícula ó ensanchamiento (*cápsula* de Bowman ó *ampolla* de Müller) esferoidal, de 100 á 120 μ de diámetro, alojada en la zona cortical y á variables alturas (fig. 457, G); se prolonga luego en conducto ancho y flexuoso (36 á 40 μ) por la susodicha zona; al llegar á la pirámide de Ferrein se adelgaza bruscamente (de 7 á 10 μ), tórnase rectilíneo y desciende hasta cerca de la papila de la pirámide de Malpigio (*rama descendente* del *asa* de Henle, figura 457, E); en este sitio forma un arco de concavidad externa y asciende en línea recta, aumentando de calibre, para tornarse otra vez flexuoso y ancho en la zona cortical (*tubo de unión*); por último, ingresa nuevamente en la substancia medular y termina en uno de los tubos rectos y gruesos (*tubos* de Bellini), que constituyen la pirámide de Malpigio. Estos conductos se juntan á otros y engendran, por convergencia y en ángulo muy agudo, aquellos gruesos tubos que, en número de 10 ó más, rematan en el vértice de la pirámide (fig. 457, A).

Fig. 458. — Corte transversal de un tubo flexuoso del conejo. (Según Retzius).

El carácter del epitelio es diferente en los varios segmentos mencionados. Así, en la cápsula de Müller, las células epiteliales se ensanchan y aplastan á manera de endotelio (fig. 460, *b)*; en las porciones anchas y flexuosas las células se engruesan, adquieren aspecto estriado, turbio, contornos indistintos, sobre todo en sus límites internos, donde se ven á menudo ciertas expansiones irregulares (fig. 458); en el tubo descendente del asa de Henle las células son más pequeñas y tan aplastadas que se comprende

la equivocación cometida por algunos de tomar este tubo por un capilar sanguíneo; en la porción ascendente del asa el epitelio es más grueso, obscuro y como estriado, pero de contornos limpios; y, por último, el que reviste los tubos de Bellini, es transparente, de núcleos evidentes, de protoplasma cúbico, correctamente limitado y algo saliente del lado de la luz glandular. Todo el trayecto flexuoso de los tubos puede considerarse como la porción secretora de la glándula; en tanto que las partes rectilíneas representan la porción excretora ó expulsora, bien que en esta glándula la función principal, la filtración sanguínea, se efectúa en la cápsula de Bowman.

El epitelio de los tubos flexuosos posee caracteres especiales, sobre los que conviene añadir algo. Según mostramos en la figura 458, el protoplasma es francamente fibrilar, componiéndose de bastoncitos (*mitom* de Flemmig) sembrados de microsomas (Retzius, 1913). Hacia la superficie libre aparece un sistema de pestañas (*cepillo* de Heidenhain) en continuación con los filamentos del protoplasma. Durante el estado de reposo, este cepillo cortical se regenera; pero cuando la turgescencia celular llega al máximo, la corteza estriada desaparece y prodúcense unos mamelones hialinos surcados de tal cual filamento protoplásmico disociado que rellenan la cavidad del conducto (fig. 458). La ruptura de los pedículos de los mamelones provoca la formación de ciertas gotas semisólidas, hialinas, que progresivamente se disuelven en el líquido urinario. La figura 458, tomada

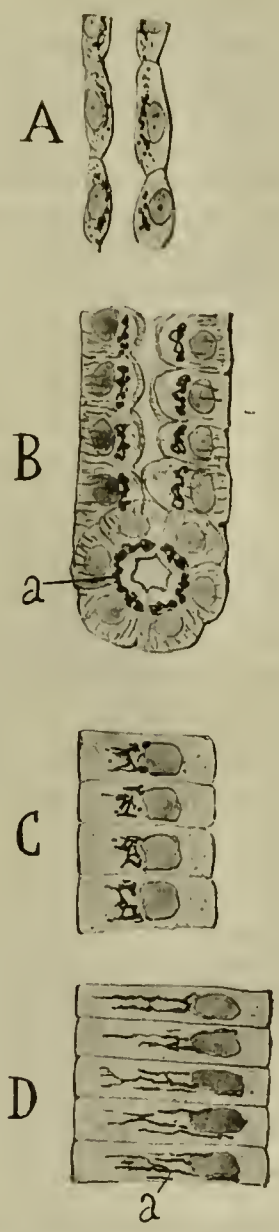

Fig. 459. — Variedades epiteliales de los tubos uriníferos. — A, epitelio de los conductos de Henle; B, epitelio de los tubos flexuosos; C, epitelio de los tubos de Bellini; D, epitelio de los gruesos tubos excretores; *a*, aparato de Golgi (conejo de pocos días).

de Retzius, da idea de esta curiosa fase secretoria de los corpúsculos en cuestión. Nuestras investigaciones prueban además, según aparece en la figura 459, B, que en la fase de reposo los elementos de los tubos flexuosos contienen un diminuto aparato de Golgi. Repárese también que el aparato de Golgi se desarrolla y alarga tanto más cuanto más nos acercamos á los tubos gruesos excretores. Granuloso y rudimentario en los tubos de Henle (A), forma en los contorneados un grupo de asas anastomóticas y, en fin, en los rectos se modela en red de trabéculos preferentemente longitudinales (D).

Cualquiera que sea el papel desempeñado por las diversas clases de células epiteliales mencionadas, es indudable que no se destruyen durante su actividad funcional, como lo prueba la ausencia de carioquinesis y la de formas degenerativas.

Los vasos renales son abundantísimos. Las arterias provienen de la renal, se reparten en la substancia medular, llevando una dirección divergente, y en los límites de esta zona con la cortical constituyen, anastomosándose por inosculación, unas arcadas, de cuya convexidad parten ramitas divergentes, destinadas, previa ramificación, á los glomérulos de Malpigio. El *glomérulo* es un pelotón vascular, de forma esferoidal, situado dentro de la cápsula de Müller, de la cual ocupa la mayor parte (fig. 460, *c*). Los capilares que lo constituyen son flexuosos y tan apretados que es difícil distinguir sus contornos aun en las preparaciones inyectadas. Comunica el glomérulo por un ramo grueso *(vaso aferente)* con las arterias, y por otro más delgado *(vaso eferente)* con la red capilar intersticial, es decir, con la que rodea los tubos renales y tiene á su cargo la nutrición del parénquima (*e*). A veces, el tubo eferente resulta más recio que los capilares intersticiales, lo que ha servido para que ciertos autores le hayan comparado con una pequeña vena porta *(vena porta renal)*, puesto que representa un tallo situado entre capilares-raíces (los del glomérulo) y capilares-ramas (los de la red nutritiva intersticial). Esta apreciación es exagerada, pues el calibre del vaso eferente es igual al de dichos capilares, ó discrepa poquísimo. En cuanto al endotelio de la cápsula de Müller, no es atravesado por los vasitos aferente y eferente, sino que los acompaña, saltando de la pared *(hoja parietal)* á la superficie del glomérulo *(hoja visceral)* (fig. 460, *b*, *c*).

e) **Glándulas reticuladas.** — HÍGADO. — Esta glándula resulta de la agregación de infinidad de lobulillos esferoidales alargados, que parecen pender de las ramificaciones de las venas supra-hepáticas.

Cuando se practica un corte tangencial del hígado, los lobulillos aparecen como campos redondeados ó ligeramente poligonales, de 1 milímetro poco más ó menos de diámetro, y separados por tabiques conectivos, por donde caminan los gruesos vasos. Si el corte es axial ó paralelo á la dirección de las venas supra-hepáticas, los campos lobulares se presentan alargados y de una dimensión mayor (de 1'5 á 2 milímetros).

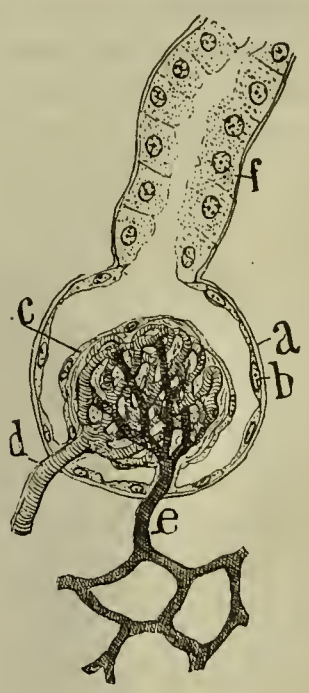

Fig. 460. — Cápsula de Müller y glomérulo de Malpigio; *a*, membrana glandular; *b*, endotelio que la reviste interiormente; *c*, endotelio que rodea el glomérulo; *d*, arteria aferente; *e*, venita eferente; *f*, epitelio turbio del tubo flexuoso.

Examinado, á buenos aumentos, un corte tangencial de un hígado previamente inyectado, se advierte que la trama vascular entra muy principalmente en su formación. En el centro del lobulillo se ve una rama de las venas supra-hepáticas cortada de través (fig. 461, A), de la cual irradia una red tupida que remata periféricamente en las ramificaciones gruesas *(venas interlobulares)* de la vena porta.

Las mallas de esta redecilla capilar están ocupadas por unos islotes más ó menos alargados ó divergentes, de células poliédricas, que representan el epitelio de la glándula hepática (fig. 461, C). El tamaño de tales corpúsculos oscila entre 14 y 30 μ; su forma es poliédrica, pero sin diámetro predominante; sus facetas son planas, excepto las que tocan á los capilares, que son cóncavas, para moldearse al contorno de ellos. El protoplasma es turbio, granuloso á flojos aumentos, pero limpiamente reticulado con fuertes objetivos; contiene en sus mallas, frecuentemente, gránulos de grasa y partículas de una materia colorante amari-

llenta. Negri ha visto en la rana un legítimo aparato de Golgi. En los mamíferos existe también, pero es dificilísimo de teñir. Alguna vez, empero, lo hemos sorprendido nosotros bajo la forma de cordones y granos pálidos, situados entre el núcleo y la superficie libre (lado del canalículo biliar). Las mitocondrias señaladas por varios autores han sido bien coloreadas por Tello (método de Achúcarro). El núcleo se distingue claramente, yaciendo de ordinario en posición excéntrica; á veces es doble, pero jamás se le halla en vías de carioquinesis. La cubierta

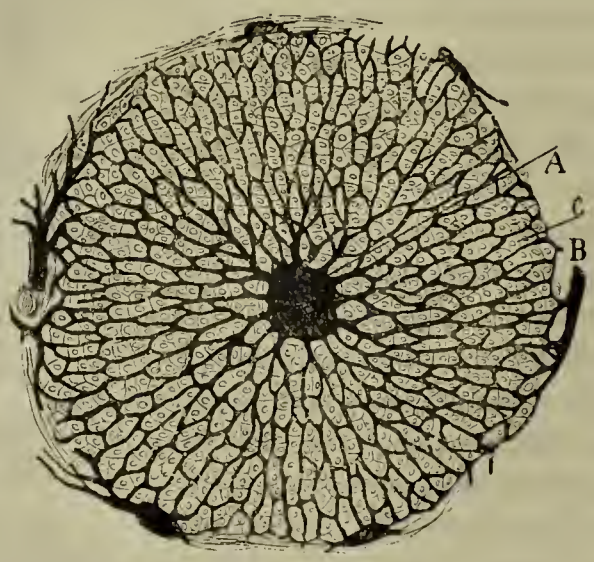

Fig. 461. — Corte de un lobulillo hepático del conejo. Inyección de la vena porta con carmín. — A, vena central; C, islotes celulares; B, venas pericelulares procedentes de la porta.

celular es difícil de discernir, merced á su delicadeza, por lo que ha sido negada por algunos.

La cavidad glandular de los lobulillos hepáticos se diferencia mucho de la ofrecida por vísceras análogas. En vez de estar representada por conductos gruesos revestidos por varias células completas, lo está por tubitos tan finos que apenas pasan de dos ó dos y medio μ de espesor; de donde se infiere que sólo una parte muy estrecha de las superficies celulares contribuye á limitar la cavidad glandular. Esta cavidad es tubulosa, finísima, difícil de poner en evidencia en los cortes de hígado inyectado;

pero fácilmente demostrable por el método de Golgi (Böhm, Cajal, Retzius, Oppel). Semejantes tubitos, llamados *capilares biliares,* constituyen una red continua de mallas poligonales, extendida desde los gruesos conductos biliares que rodean el lobulillo (fig. 462, *d)* hasta el contorno mismo de la vena central de éste. En cada malla de esta red se aloja una célula hepática, y los capilares ó trabéculos biliares se disponen de tal modo,

Fig. 462.– Un cuarto de lobulillo hepático cortado de través y cuyos capilares biliares se han impregnado con cromato de plata. – A, vena central del lobulillo; B, rama porta perilobular; *a,* capilares sanguíneos; *b,* red de capilares biliares; *c,* fondos de saco biliares rodeando la rama supra-hepática; *d,* conductos biliares gruesos ó perilobulares.

que entre ellos y los capilares sanguíneos media siempre el espesor de un elemento glandular (fig. 464, *b).*

Algunos conductitos biliares acaban libremente entre las facetas de dos corpúsculos vecinos; este modo de terminar es sobre todo aparente en el centro del lobulillo, es decir, en torno del ramo de la vena supra-hepática (fig. 462, *c*). Ciertos autores (Pfeiffer, Kupffer y recientemente Oppel) añaden todavía la existencia de unos divertículos esféricos, yacentes en pleno pro-

toplasma de las células glandulares, y unidos por finos pedículos á los conductos de la red terminal (fig. 464, *c*).

Entre los islotes celulares y los capilares sanguíneos se hallan unas fibras finas, al parecer de naturaleza conectiva. Estas fibrillas, que ya habían sido vistas con el método del cloruro de oro por Rohte y Miura, han sido recientemente impregnadas por Oppel valiéndose de un procedimiento especial, variante del método de Golgi, y por Mall que los colorea con la fuchina ácida.

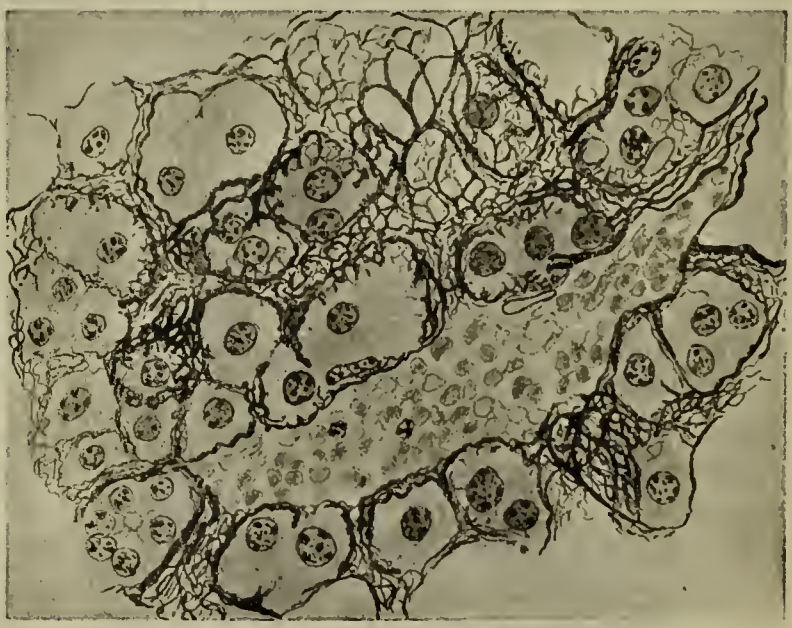

Fig. 463. — Trozo de un lobulillo hepático del hombre. Nótese entre las células glandulares y en torno de vasos, una urdimbre de fibras finas anastomosadas. (Dibujo y preparación de Achúcarro. Proceder al tanino y plata amoniacal).

Oppel las distingue en gruesas ó radiadas, que divergen desde la vena central, pasando por entre los islotes celulares; y finas ó reticuladas que rodean vasos y espacios linfáticos perivasculares. También Achúcarro las ha impregnado con su método del tanino y plata amoniacal. En la figura 463 damos idea de la malla que rodea cada grupo de corpúsculos hepáticos. Las células de Ehrlich son raras en los lobulillos hepáticos. Como C. Calleja ha demostrado, tales corpúsculos sólo acostumbran á residir en la periferia de aquéllos, no lejos de las venas voluminosas.

Testículo.—Consta esta glándula de dos partes: la *armadura fibrosa* y los *tubos seminíferos*.

La armadura fibrosa está representada por una cápsula (membrana *albugínea*) espesa, blanca y brillante, que envuelve la glándula, espesándose al nivel del borde superior de ésta, donde ofrece un engrosamiento de sección triangular (*cuerpo de Higmoro*), atravesado por los conductos excretores en red (*rete testis*). De la cara profunda de tal espesamiento parten tabiques conectivos, divergentes, insertos en la superficie interna de la cápsula, que dividen al parénquima en compartimentos alargados ó lobulillos seminíferos. A más de tales tabiques, hay en cada lobulillo, separando los conductos seminíferos, un tejido conjuntivo flojo, rico en lagunas plasmáticas y en vasos, y notable por la abundancia de células conectivas. Estas células (*células intersticiales* del testículo) son más gruesas que las conjuntivas comunes; ofrecen forma poliédrica y forman, á menudo, acúmulos ó cordones en torno de los vasos, como las células llamadas del *plasma*. En su protoplasma se advierten comunmente gránulos grasientos y esférulas de una materia colorante morena. La significación de estas células es muy enigmática. Nussbaum les niega carácter conectivo, identificándolas con aquellos elementos germinales del cuerpo de Wolff, de donde se origina el epitelio del testículo y del ovario. Lenhossék, que las ha estudiado recientemente, señala en ellas la presencia de inclusiones cristalinas y la de verdaderos centrosomas. La cir-

Fig. 464.—Detalles de los islotes hepáticos y capilares biliares. Coloración con el cromato de plata y subsiguientemente con la hematoxilina. — *a*, capilares sanguineos; *b*, capilares biliares; *c*, vacuolas de secreción; *d*, células hepáticas.

cunstancia de abundar notablemente dichos elementos cerca de los *tubuli,* y en la época en que el testículo se halla en plena actividad, inclinan á Lenhossék á estimarlos como células destinadas á llevar productos alimenticios al epitelio activo de los tubos seminíferos.

Los *tubos seminíferos* son larguísimos, gruesos (de 100 á 180 μ de diámetro), flexuosos y flojamente adheridos entre sí. No son independientes por sus extremos, sino que forman redes de mallas larguísimas y complicadas, cuyo apelotonamiento constituye el lobulillo seminífero. Cerca del vértice del lobulillo, los tubos adquieren dirección rectilínea y convergen en uno solo *(tubos seminíferos rectos),* el cual, anastomosándose en el espesor del cuerpo de Higmoro con el de los otros lóbulos, constituye una red (*rete testis*), de la que á su vez parten los lóbulos que entran en la formación del *epidídimo.*

La textura de los tubos seminíferos tiene que estudiar una *cubierta* y el *epitelio seminal.*

La *membrana* es gruesa, tingible en rojo por el carmín y estriada según su plano. En su espesor se contienen núcleos aplastados, de sección transversal fusiforme y concéntricos al tubo. La presencia de núcleos y estriaciones revela en la pared la existencia de membranas conectivas superpuestas separadas por una capa epitelial (fig. 465, *a*).

El *epitelio* varía de aspecto según el estado funcional del tubo seminífero. En reposo, la pared tubular aparece revestida de tres ó cuatro capas de células poliédricas, apretadas, sin diferenciación bien apreciable, ni existencia de fases carioquinéticas; pero en estado de actividad, el epitelio ofrece numerosas variantes de disposición, que corresponden á etapas distintas de la espermatogenesis.

La disposición estructural más común es la representada por el dibujo D (fig. 465). En el interior del tubo seminífero yacen dos especies celulares: los *elementos alargados* y los *poliédricos.*

Los elementos *alargados* (fig. 465, B, *b*), llamados *espermatoblastos* (Ebner), *células de sostén* (Müller), *células ramificadas* (Sertoli), *células de pie* (Benda), etc., son de forma cónica

y convergentes á la luz del conducto; su base se aplica á la pared del tubo seminífero y contiene un núcleo de sección triangular, pobre en gránulos cromáticos; y su extremidad central, más ó menos ramificada, continúase con un racimo de zoospermos en distintas fases evolutivas. Las cabezas de éstos aparecen como adheridas al protoplasma de la célula alargada y presentan el aspecto de núcleos homogéneos, prolongados en forma de hierro de banderilla (rata) (fig. 465, D).

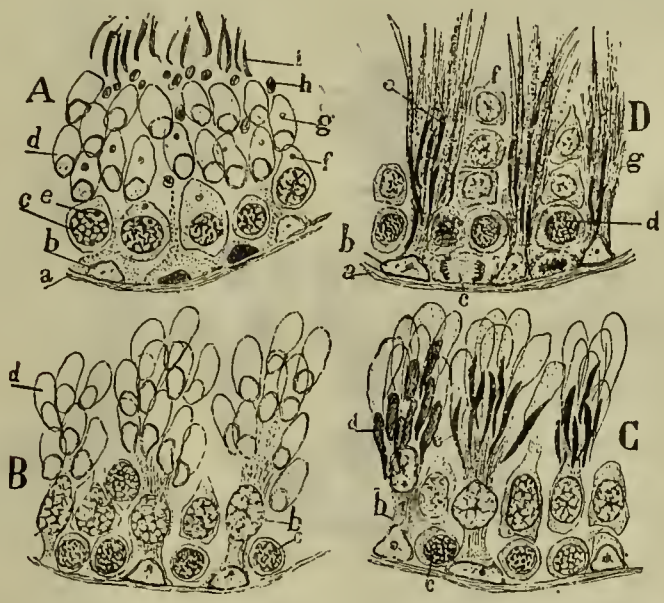

Fig. 465.—Espermatogenesis de la rata blanca.

A. Fase en la cual se diferencian las espermatidas *(d)*; *b*, células de sostén todavía poco aparentes; *c*, células germinales.

B. Fase en la cual las células de sostén han entrado ya en copulación con las espermatidas; *d*, espermatidas; *b*, células de pie ó sostén.

C. Fase en la cual las espermatidas se convierten en zoospermos; *d*, zoospermo embrionario; *b*, célula de sostén.

D. La fase anterior, pero todavía más adelantada; *e*, cabeza de un zoospermo; *g*, células de sostén con un racimo de espermatozoos.

Los elementos *poliédricos*, llamados células *redondas* por Merkel, *movibles* por Sertoli, etc., son corpúsculos pequeños, casi libres, que se disponen en varias hileras en los intervalos de las células alargadas ó de sostén. Estas células representan la estirpe de los zoospermos (figs. 465, *d*, y 466, B).

Evolución del espermatozoide. — Estudiada en un gran número de vertebrados é invertebrados, constituye un proceso compli-

cadísimo que varía algo en cada especie y que ofrece todavía no pocos puntos obscuros y controvertidos. En la descripción siguiente nosotros expondremos las líneas generales de la espermatogenesis de los mamíferos, según resulta de los trabajos de Benda, Roberi, V. Beneden y principalmente de Meves, que ha consagrado á este tema numerosos y penetrantes análisis. Pasa la célula seminal por los períodos *germinal,* de *crecimiento* y de *maturación.*

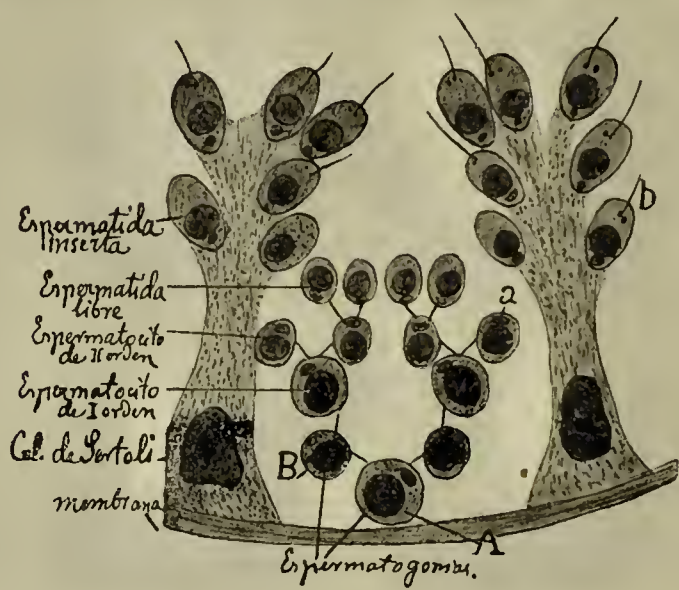

Fig. 466.—Esquema en que se muestra el árbol genealógico de los zoospermos. Las células grandes son los corpúsculos de Sertoli. — A, espermatogenia madre; B, espermatogenias hijas; *a,* idiozoma; *b,* flagelo de la espermatida.

1. *Período germinal.* — Comprende diversas generaciones celulares, las cuales abocan á la diferenciación de la *espermatogonia*. La *célula germinal* primitiva, yacente por debajo de la pared del tubo seminífero, prolifera (fig. 465, C), y el resultado de esta proliferación es la formación de las *espermatogonias,* células que se dividen dos veces sucesivas y cada una de las cuales genera, por vía de mitosis, cuatro *espermatogonias hijas* (fig. 466, A).

Caracterízase la *espermatogonia* de la primera generación por su gran talla (20 á 22 μ), forma esferoidal ó poliédrica, resi-

diendo junto á la pared del tubo seminífero, y ofrecer en su protoplasma cierta vesícula especial, el *idiozoma,* dentro del cual se contienen los centriolos (fig. 466, A). La descendencia de la primera espermatogonia es algo variable; algunas de estas células hijas son espesas, poseen protoplasma reticulado y núcleo voluminoso, en cuyo interior se aloja un nucleolo bien aparente y cromatina reducida á finos gránulos *(espermatogonias polvorientas* de Branca) (fig. 466); otras espermatogonias son pequeñas (12 μ), muestran núcleo diminuto, sin nucleolo y provisto de

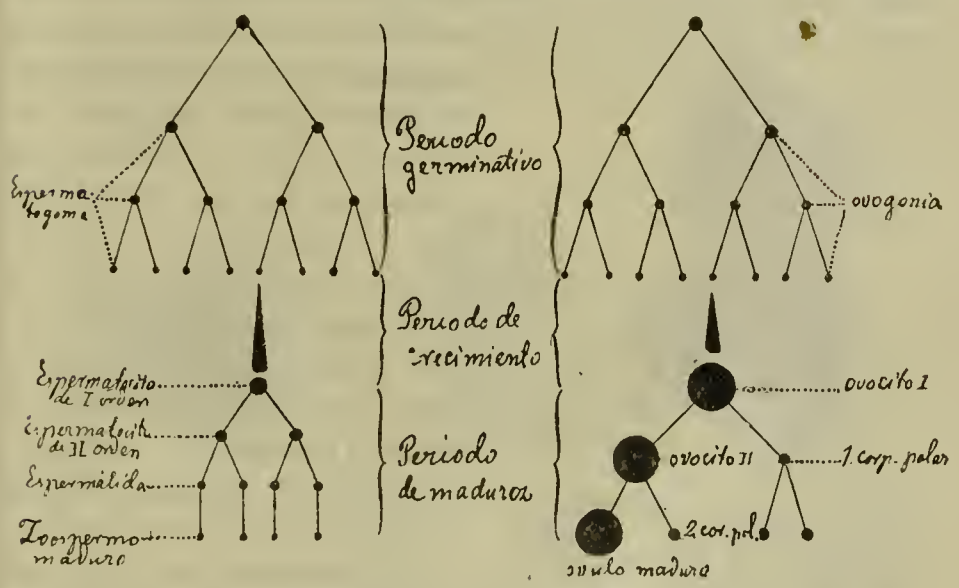

Fig. 467. — Esquema de Boveri que presenta, en orden cronológico y paralelamente, la genealogía del zoospermo y del óvulo. La figura de la izquierda muestra las divisiones de la célula sexual masculina, y la de la derecha las de la célula femenina.

grumos cromáticos gruesos y anastomosados (*espermatogonias de núcleo costroso* de Branca) (fig. 466, B).

2. *Período de crecimiento.* — La espermatogonia pequeña de la última generación crece progresivamente hasta alcanzar 20 á 24 μ. Empujada por las espermatogonias más jóvenes, ocupa en el tubo seminífero posición de cada vez más central, y se dispone en una ó dos hileras concéntricas. Su protoplasma exhibe un idiozoma voluminoso con dos centrosomas; su núcleo, abultado, contiene armazón cromático robusto. Ahora bien, estas

células de gran talla, resultantes del crecimiento de las últimas espermatogonias, desígnanse *espermatocitos de primer orden* (véanse las figs. 466 y 467).

3. *Fase de maturación.*—Así se designa el período durante el cual el *espermatocito de primer orden,* dos veces dividido, genera cuatro células de pequeña dimensión, las cuales son homólogas de los *cuerpos polares* del ovocito embrionario en fase de maturación. Mas aquí los glóbulos polares no están destinados á eliminarse y destruirse, sino que se aprovechan para constituir cuatro diminutos corpúsculos: las *espermatidas.* La generación intermediaria entre la espermatida y el espermatocito de primer orden, desígnase *espermatocito de segundo orden* (véase fig. 466, *a).* Según dejamos consignado ya al tratar de la conjugación celular, mediante las citadas divisiones de maturación la cromatina del espermatocito de primer orden queda reducida á la mitad. La célula productora de la segunda división toma el nombre de *espermatida.*

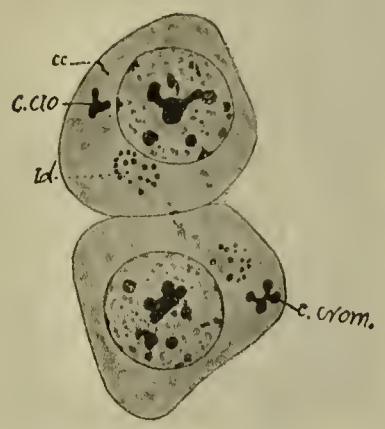

Fig. 468. — Dos espermatidas de cobaya, según Meves. — *cc,* centrosomas; *id,* idiozoma; *c.cro,* cuerpo cromatoide.

Caracterízase por su pequeña talla, forma ovoidea, núcleo más ó menos excéntrico y, sobre todo, por poseer, además del núcleo, dos órganos intraprotoplásmicos: el *idiozoma,* compuesto de una vesícula y de granos cromáticos (fig. 468, *id),* y dos *centrosomas,* que aparecen ahora libres en una región especial del cuerpo celular (fig. 468, *cc).* Las espermatidas más jóvenes yacen flotantes en dos ó más hileras concéntricas entre las células de pie ó de Sertoli; pero las más adelantadas dirígense hacia estos últimos elementos, como atraídos por impulsos quimiotácticos, y se insertan en las expansiones protoplásmicas de aquéllas (figs. 466, *b,* y 465, *d),* donde se convertirán en zoospermos. Contemporáneamente, el cuerpo de la espermatida afecta forma ovoidea, que se alarga progresivamente por estiramiento del

protoplasma acumulado en un solo polo. Nótese, según aparece en la fig. 466, *b*, que el núcleo y el *idiozoma* están vueltos hacia la célula de Sertoli ó de pie, mientras que los centrosomas, escapados ahora del interior del idiozoma, trasládanse al cabo central del protoplasma. En fin, hagamos notar que la espermatida no sufre ninguna división, convirtiéndose por sucesivas diferenciaciones en zoospermo adulto.

4. *Período de espermatogenesis.*—Las transformaciones experimentadas por la *espermatida* hasta convertirse en *zoospermo adulto* son notablemente intrincadas. A pesar de los estudios penetrantes y porfiados de estos últimos años, este proceso encierra todavía incógnitas no despejadas.

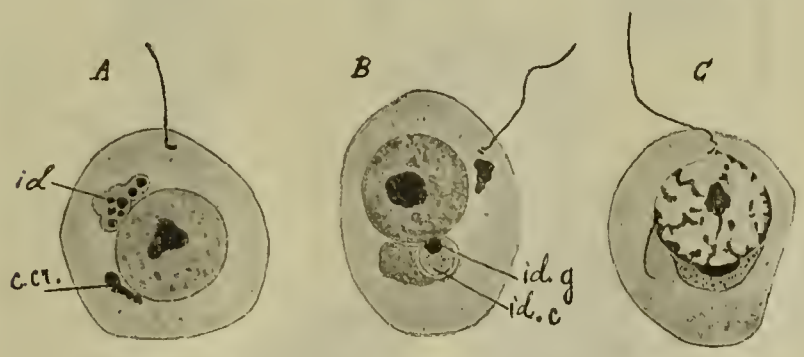

Fig. 469. — Fases de la espermatida para transformarse en zoospermo. *id*, idiozoma; *c.cr*, cuerpo cromatoide. (Según Meves).

He aquí, de todos modos, la marcha del proceso en un mamífero (cobaya), en donde Meves ha efectuado sistemáticas y bien conducidas observaciones.

Comencemos primeramente por mostrar la estructura de la espermatida. Según aparece en la figura 469, la espermatida del cobaya posee: dos centriolos situados por bajo de la membrana y que emigran del *idiozoma*; el *idiozoma* (*núcleo accesorio, archoplasma, esfera atractiva,* etc.), vesícula llena de granulaciones obscuras; el *cuerpo cromatoideo*, substancia intensamente coloreable por la hematoxilina y dispuesta en grumos dentellados (fig. 469, *c.cro*). Hay motivos para sospechar que este cuerpo no es otra cosa que el aparato de Golgi insuficientemente teñido. Duesberg (1912), empero, con ocasión de sus críti-

cas contra Perroncito, identifica la red de Golgi con el *idiozoma*.

Primer período. — El idiozoma se transforma rápidamente produciendo estos tres órganos: cierta masa granulosa exterior dispuesta en forma de gorro irregular (fig. 469, B); una esfera

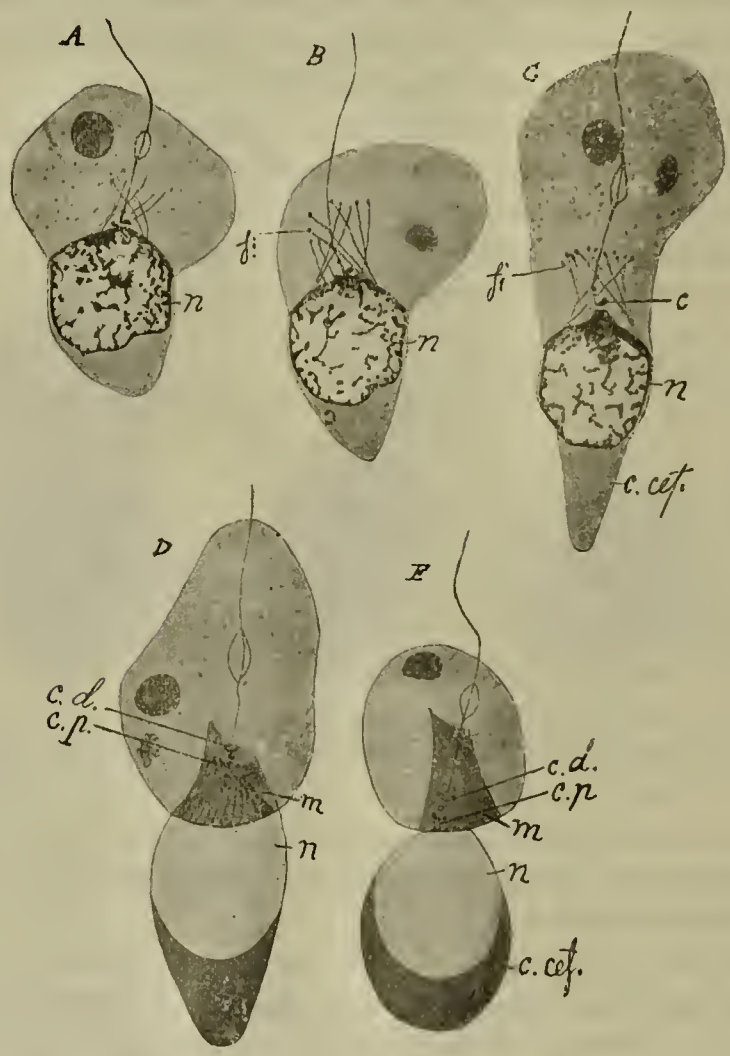

Fig. 470. — Fases de la metamorfosis de la espermatida en zoospermo. — *c*, centrosoma; *n*, núcleo; *fi*, filamentos del manguito pericentrosomático; *m*, manguito ya formado; *c.d.*, centrosoma distal; *c.p*, centrosoma proximal; *c.cef*, capuchón cefálico. (Según Meves).

clara interior, pálidamente coloreable, y un grumo ó grano obscuro situado por dentro de esta esfera y sucesivamente ajustado al núcleo (*id.g*). Este grano obscuro dilátase luego, contorneando el núcleo y generando más tarde el *botón terminal* ó *acroso-*

ma de la cabeza del zoospermo. Mientra el grano obscuro sufre tan curiosas metamorfosis, la porción clara de la esfera extiéndese también en semiluna, recubriendo el núcleo para constituir el órgano que más adelante tomará el nombre de *capuchón cefálico* (fig. 469, C).

Al mismo tiempo, la pareja de centrosomas evoluciona. Uno de los centriolos permanece en reposo, pero el otro emite un largo filamento que emerge de la espermatida y representa el esbozo de la cola zoospérmica (fig. 469). Más adelante ambos centrosomas emigran hacia el núcleo, junto al cual residirán durante el segundo y tercer período.

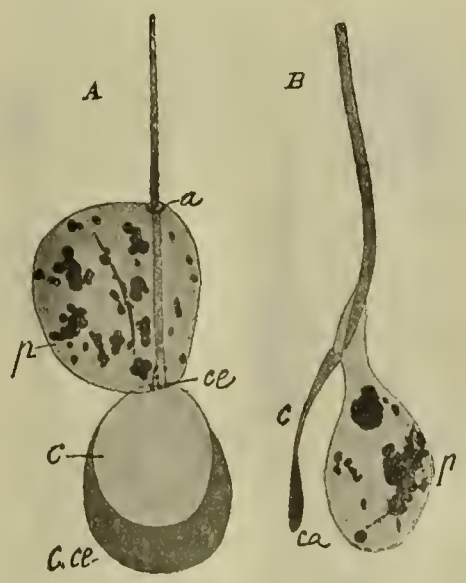

Fig. 471.—Fases últimas de la espermatida para convertirse en zoospermo.—A, trozo de espermatida vista de frente; B, trozo visto de canto; *a*, anillo centrosomático terminal; *ce*, botones del centrosoma proximal; *p*, resto del protoplasma; *c*, cabeza ó núcleo zoospérmico; *c.ce*, capuchón cefálico.

Segundo período. — El núcleo se dirige á un cabo de la espermatida, concentrándose el protoplasma en el polo opuesto, es decir, en el cabo portador del flagelo. Además, aquel grano obscuro, esbozo del acrosoma cefálico, crece notablemente, constituyendo casi todo el polo opuesto al protoplásmico y modelándose en forma de cono (fig. 470, *b*). En torno de la porción intraprotoplásmica del flagelo, y, por tanto, en derredor de los centrosomas, surgen después unos hilos finísimos, cruzados en ángulos variados que parecen insertarse en el núcleo. Tales hebras, progresivamente acortadas, aproxímanse entre sí, fúndense en una masa homogénea y dan origen á un forro ó manguito transitorio que rodea el filamento intraprotoplásmico de la cola, y que se denominará estuche caudal (fig. 470, *fi*).

Curiosas evoluciones sufren también los centrosomas. El cen-

triolo proximal se aplica íntimamente al núcleo, adquiriendo la forma de bastoncito; por su parte, el centriolo distal se encorva en anzuelo y se divide en dos segmentos: uno de ellos se resolverá, andando el tiempo, en el *botón terminal* ó gránulos yuxtanucleares del zoospermo adulto (fig. 471, *cc*), emitiendo ciertos filamentos que se pierden en la pieza intermediaria; el otro segmento, situado en posición más distal, generará el *disco* ó *anillo terminal* (fig. 471, *a*). El protoplasma se alarga de cada vez más, concentrándose sobre un polo, y, en fin, el núcleo, futura cabeza del zoospermo, se modifica, fragmentando sus grumos cromáticos, los cuales se concentran en el polo distal, donde constituyen una masa intensamente coloreable por las anilinas básicas. Queda de esta guisa dividida la cabeza zoospérmica en dos regiones: la *distal,* pequeña, fuertemente coloreable, y la *proximal,* clara y ancha (fig. 471, *c*).

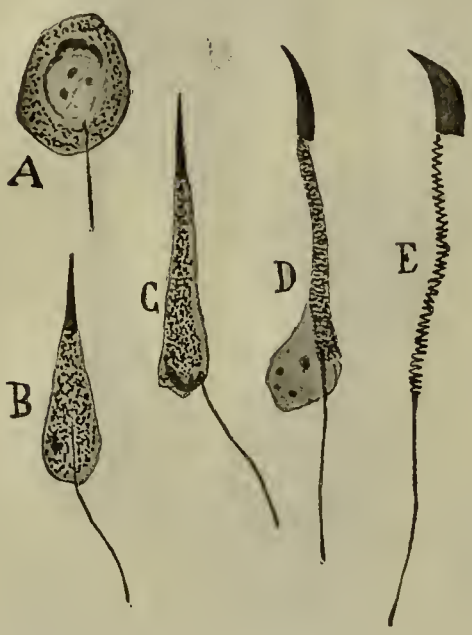

Fig. 472.—Evolución de las mitocondrias del ratón durante la transformación de una espermatida en zoospermo (según Benda y Waldeyer). Los gránulos mitocondriales sueltos en A, B y C, se disponen en series en D, y en la fase E se transforman en un filamento espiral.

Tercer período. — La cabeza se alarga y aplana progresivamente; desaparece el manguito caudal sin dejar resíduos y se reduce progresivamente el protoplasma situado en torno del aparato filamentoso ó espiral de la pieza intermedia. El anillo cromático, hijo del centrosoma distal, emigra á lo largo del filamento axial ó porción intraprotoplásmica del flagelo caudal, deteniéndose entre la pieza intermediaria y la pieza principal, para desaparecer progresivamente, ó por lo menos hasta perder su colorabilidad por la hematoxilina ferruginosa (fig. 471, *a*).

Durante esta fase prodúcense dos órganos importantes: el *aparato espiral y la cola propiamente dicha;* ydesaparece el *cuerpo protoplásmico.*

En torno de la pieza intermedia percíbese cierta substancia especial, dispuesta en forma de manguito, y colorable por la hematoxilina. Dentro de esta substancia destaca un hilo espiroideo de vueltas apretadas, que rodean la pieza intermedia, á cuyo contorno presta en el enfoque ecuatorial cierto aspecto granuloso característico (fig. 474, *f. espi.).*

Según dejamos apuntado más atrás, el filamento espiral proviene, conforme descubrió Benda, de la concreción de las mitocondrias. Esta procedencia no ha sido bien observada en todos los mamíferos. Sin embargo, conforme muestra la figura 472, tomada de Benda y Waldeyer, en las espermatidas de ciertos animales pueden seguirse todas las fases intermedias entre las mitocondrias independientes diseminadas en el cuerpo celular (A y B) y las mitocondrias asociadas y fundidas en colonia espiral (D y E).

También en los espermatocitos y espermatidas de la *paludina vivipara* ha probado Meves que las mitocondrias, primeramente dispuestas en gránulos y anillos (fase de espermatocito), constituyen esferas (fase de espermatida), se condensan en torno de la pieza intermediaria para formar al fin el forro mitocondrial (fig. 129) de ésta.

La cola se alarga notablemente, espesándose de cada vez más desde su punta hasta la pieza intermediaria. Distínguense en ella el forro y un eje sucesivamente adelgazado, que asoma en el vértice para constituir la *pieza terminal* (fig. 474, *p. term.*).

Finalmente, el protoplasma sobrante de la construcción del zoospermo se ladea y pedicula, desprendiéndose después más ó menos completamente. En el hombre semejante masa residual desaparece por completo; pero en otros mamíferos, en el cobaya, por ejemplo, subsiste hasta la fase terminal del espermatozoo (fig. 475, *pr.*), constituyendo pequeño acúmulo granuloso en torno de la pieza intermediaria. Asimismo son eliminadas las partes no aprovechadas del idiozoma (Branca) y el cuerpo cromatoide especial y cubiertas caudales.

Ondas espermatogénicas.—En los tubos seminíferos, la espermatogénesis se presenta con cierta regularidad, desarrollándose por hornadas desde el fondo ó cabo de cada tubo hacia su boca, y según una línea espiroidea interrumpida. En un mismo tubo, pues, se hallarán en forma helicoide todas las fases del proceso espermatogénico (Regaud).

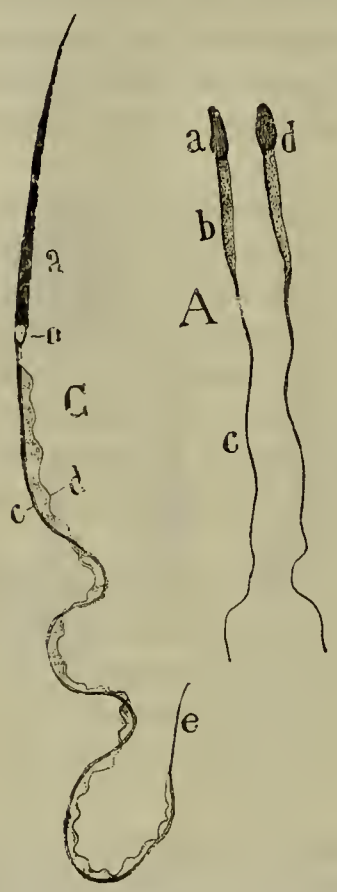

Fig. 473.—A, zoospermos humanos; *a*, cabeza vista de perfil; *d*, cabeza vista de frente; *b*, pieza intermedia; *c*, cola; C, zoospermo de *salamandra maculosa*; *a*, cabeza; *b*, cuerpo intermedio; *c*, cola; *d*, membrana espiral.

Espermatogénesis en los invertebrados. — Reproduce en esencia el proceso de los vertebrados, dándose igualmente los fenómenos de evolución y maturación de los espermatocitos, así como su copulación con elementos nutritivos ó de sostén. Sin embargo, en algunos animales (nematodos, anélidos, etc.) el corpúsculo de sostén es central y constituye, en el eje del tubo seminífero, una larga masa protoplásmica (*raquis* ó *citóforo*), en la cual se insertan los espermatocitos. En los moluscos y ciertos anélidos, los *citóforos* se muestran multinucleados. En los gasterópodos, la célula de sostén yace periféricamente, insertándose en la membrana y asemejándose por consiguiente al corpúsculo de Sertoli de los vertebrados.

Zoospermo maduro.—Los *zoospermos* adultos son filamentos movibles, de 60 ó más μ de longitud, que se hallan abundantemente en el líquido que llena los tubos seminíferos, epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales. Constan de tres partes: *cabeza* ó *núcleo, porción intermedia* y *cola*. La cabeza varía mucho de forma y tamaño en las diversas especies animales; en los zoospermos humanos es piriforme, algo aplastada y parece compuesta de una materia cromática, homogénea, rodeada de una membrana. La cola es larguísima y va

disminuyendo de espesor hasta su punta, que es difícil de dis-

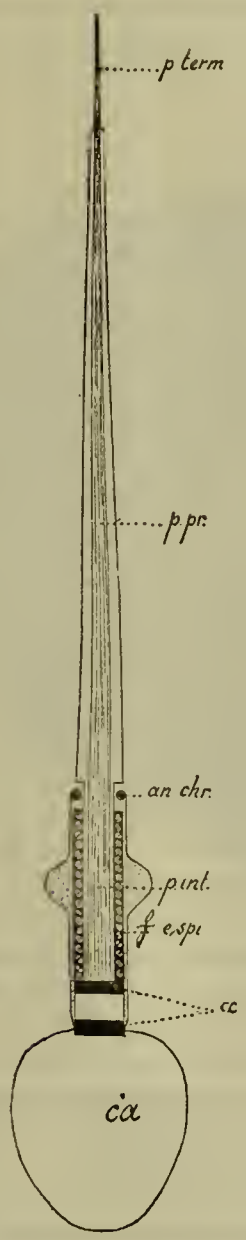

Fig. 474. — Esquema del zoospermo adulto del cobaya, según Meves.— *ca*, cabeza; *cc*, centrosomas; *an. chr.*, anillo cromático; *f. esp.*, filamento espiral cortado de través; *p. int.*, pieza intermediaria; *p. pr.*, pieza principal.

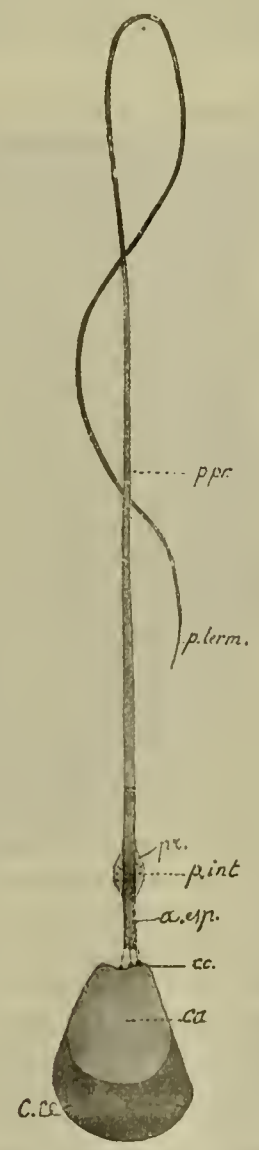

Fig. 475.—Zoospermo adulto del cobaya (Meves). — *ca*, cabeza; *c. ce.*, capuchón cefálico; *cc*, centrosomas; *a. esp.*, aparato espiral; *pr*, protoplasma; *p. int.*, pieza intercalar; *p. pr.*, pieza principal; *p. term.*, pieza terminal.

cernir, á causa de su extrema delicadeza. La pieza ó porción

intermedia es el segmento grueso comprendido entre la cola y la cabeza; comienza junto á ésta por ligera estrangulación (cuello) y termina en su unión con la cola mediante una estría, no siempre bien perceptible.

Los modernos trabajos sobre la estructura del zoospermo, singularmente los de Bardeleben, Retzius y Meves, dan á éste una estructura complicada, visible sobre todo en las preparaciones coloreadas por la hematoxilina ferruginosa.

En la figura 474 mostramos el esquema bien conocido, en donde Meves resume sus observaciones sobre el espermatozoo del cobaya.

Repárese que detrás de la cabeza, en la región del cuello, existe una pieza aplastada que no es otra cosa que el resultado de la metamorfosis del centrosoma proximal. En el hombre, este centrosoma aparece resuelto en delicados gránulos. Viene después un segmento incoloro, el *cuello* propiamente dicho, y á seguida el bastón terminal, producción del centrosoma distal. La pieza intermediaria (figura 474, *p. int.*), posee un filamento espiral, sumergido en una substancia especial, y un cordón axil ó central continuado con la cola (fig. 474). Más allá del forro espiral aparece un espacio claro y el anillo ó disco terminal, formado por la otra mitad del centrosoma distal (*an. chr.*). Además, la excrecencia granulosa que rodea la pieza intermediaria, constituye una reliquia protoplásmica y se designa *vaina protoplásmica*. En fin, en la cola hay que distinguir la porción ó pieza principal, larguísimo segmento construído por el filamento axial y su eje, y la punta, representada exclusivamente por la extremidad del filamento axial (fig. 475, *p. term.*) y llamada *pieza terminal*.

En la cabeza aparecen las dos zonas antes indicadas separadas por una línea transversal; el segmento anterior es pálido, y el posterior, donde se concentra la cromatina nuclear, es enérgicamente coloreable. En algunos animales, el vértice de la cabeza exhibe el acrosoma ó botón cefálico, corpúsculo muy pequeño y puntiagudo, y en torno de ella se dibuja una pálida cubierta, el *capuchón cefálico*, muy desarrollado en los animales y poco visible en el hombre.

En suma; casi todos los órganos de la espermatida se reconocen en el zoospermo, donde han sufrido importantes modificaciones. Así, el núcleo de aquélla conviértese en la cabeza de éste; la porción obscura del idiozoma forma el vértice cefálico ó acrosoma; la parte clara de este mismo órgano se transforma en el capuchón cefálico; de ambos centrosomas, el proximal produce el bastoncito yuxtanuclear y el distal el botón y anillo terminal; el protoplasma genera el filamento y la pieza intermediaria; en fin, los condriomitos del cuerpo celular se transforman en filamento espiral.

En los demás vertebrados, la estructura de los zoospermos obedece al mismo plan, aunque con variantes notables en las dimensiones relativas de cada parte. Así, en la salamandra (fig. 473, C) la cabeza es larguísima, homogénea y modelada en hierro de lanza; la cola es más prolongada aún, y en su torno se arrolla una membrana espiral, dotada de movimientos ondulatorios.

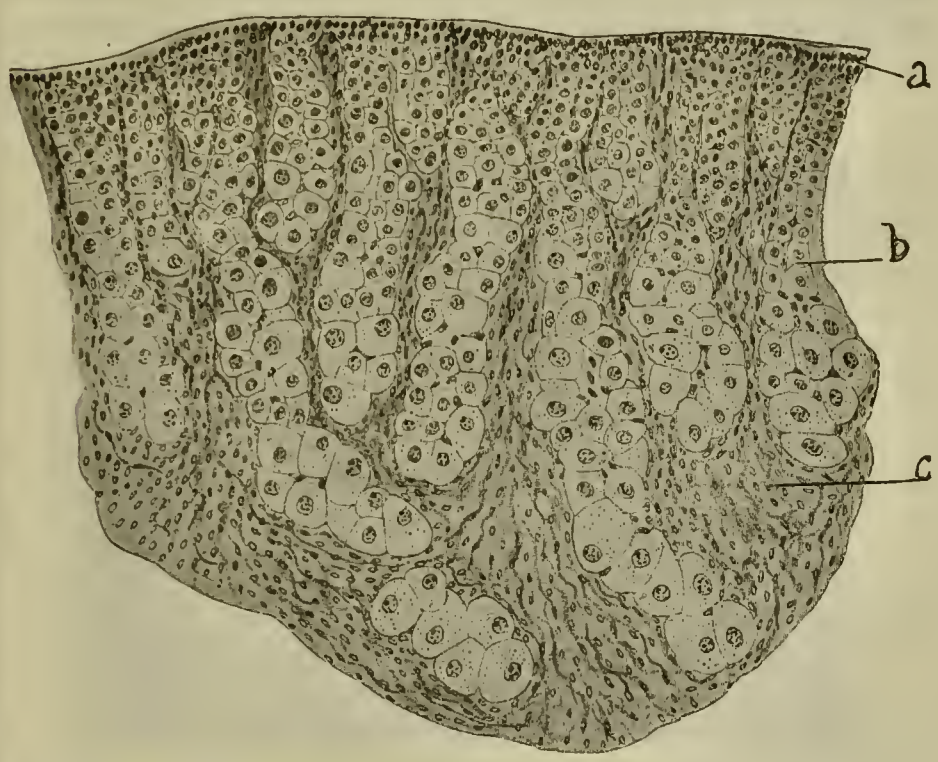

Fig. 476.—Corte del ovario de la gata de pocos días.—*a*, epitelio germinal; *b*, cordones de Pflüger; *c*, tejido conectivo intersticial. (Según Prenant).

Glándulas vesiculares.—Ovario.—Un corte de este órgano nos presenta dos zonas: una central, prolongada con el hileo y esencialmente formada por un estroma conectivo rico en vasos gruesos (*substancia medular*); y otra periférica llamada *substancia cortical*, donde se contienen las partes características de este parénquima, es decir, el *epitelio germinal* y las *vesículas de Graaf*.

El *epitelio germinal* forma una capa delgada que reviste la superficie ovárica y se continúa con el endotelio peritoneal. Las células que constituyen dicha capa son cuboideas, de protoplas-

ma turbio y núcleo relativamente voluminoso. De estos elementos derivan probablemente los óvulos, por lo cual se los designa *epitelio germinal.* La continuidad entre las vesículas de Graaf y este epitelio no aparece en los animales adultos, mas en la época embrionaria demuéstrase fácilmente, notándose que los óvulos constituyen cordones celulares englobados en el extremo ovárico, prolongado con el epitelio germinal, del que representan simples invaginaciones ó repliegues (fig. 476, *b).*

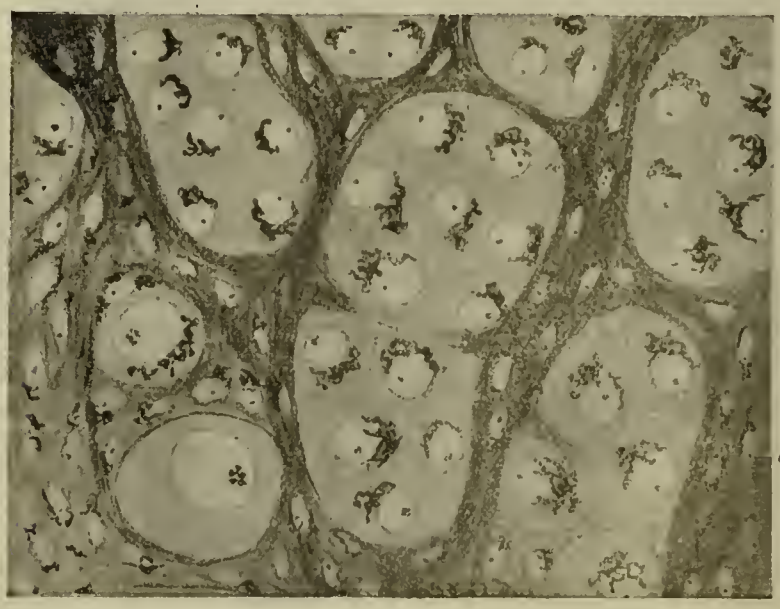

Fig. 477.—Aparato de Golgi en los óvulos primordiales del cobaya. (Según Río Hortega). Método del formol-urano.

Las *vesículas de Graaf* hállanse abundantemente diseminadas en la capa cortical. Las más gruesas residen en las regiones hondas de este estrato, en tanto que las más jóvenes y rudimentarias habitan el plano superficial (fig. 478).

Las fases por que atraviesa el óvulo y vesícula de Graaf son las siguientes: *fases germinal, de multiplicación, de crecimiento ó folículo primordial, de vesícula embrionaria, de vesícula adulta y de maturación.*

1.ª *Fase germinal.*—Son los óvulos de estirpe mesodérmica, procediendo de aquel epitelio del celoma que une durante la

época embrionaria los cuerpos de Wolff. Este epitelio, situado en la superficie y por dentro de dichos cuerpos, prolifera activamente, se eleva en forma de protuberancia, y finalmente, pediculándose y separándose progresivamente del cuerpo de Wolff, constituye el ovario. Al principio, este órgano consta de una trama de tejido conectivo embrionario, revestida exteriormente por el epitelio de la cavidad celómica, epitelio que toma el nombre de *germinal*, porque en él se hallan los gérmenes de los futuros *óvulos* y *células foliculares*.

En los últimos tiempos de la vida embrionaria, el epitelio germinal es asiento de activa multiplicación; la membrana constituída por tales elementos se repliega hacia el espesor del órgano y se producen largos cordones penetrantes en la trama conectiva, donde se ramifican y anastomosan complicadamente (figura 476, *b)*. La formación de estos cordones, que se llaman *cordones de Pflüger*, comienza en el embrión de dieciocho días (conejo), cesando después del nacimiento. Algunos días después del nacimiento sorpréndense todavía en el gato cordones en vías de formación, según aparece en la figura 476. En la mujer, la emigración del epitelio germinal se prolonga hasta los dos años. Transcurrido este tiempo, el epitelio germinal cae en reposo; todos los óvulos y células foliculares serán, por tanto, diferenciaciones de los consabidos cordones.

2.ª *Fase de multiplicación*.—Iníciase ya en el epitelio germinal, pero se prosigue activamente dentro de los cordones de Pflüger, cuyo caudal celular aumenta notablemente. En un principio no es posible diferenciar los futuros óvulos de los elementos destinados á ser células foliculares; más tarde, los cordones se segmentan en trozos que sucesivamente se redondean, y se distingue ya un corpúsculo central, la *ovogonia*, así como una corona más ó menos regular de células pequeñas que representan los futuros corpúsculos foliculares.

3.ª *Período de crecimiento ó de folículo primordial*.—La ovogonia se desarrolla progresivamente, apareciendo al principio bajo la forma de una célula pequeña, aunque más grande que las del estroma, de forma redondeada ó poliédrica, y cuyo núcleo, rico en cromatina, exhibe una disposición reticulada.

En torno del óvulo rudimentario se ven tres ó cuatro células aplastadas é irregulares, nacidas por diferenciación de las primitivas germinales, y que representan el primer esbozo de la zona epitelial ó granulosa peri-ovular (fig. 478, *a, b)*.

Ulteriormente el núcleo de la ovogonia crece y su red cromática se resuelve en un filamento continuo, como si se preparase

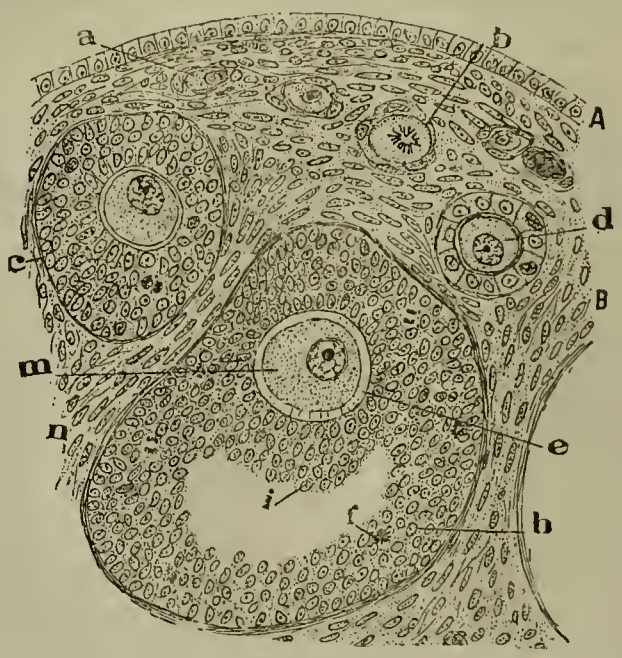

Fig. 478. — Corte del ovario de la coneja. Corte en parafina y coloración en hematoxilina. — *a,* foliculos primordiales muy jóvenes; *b,* óvulo en mitosis; *d,* otro foliculo primordial, pero más avanzado, con una capa epitelial regular; *c,* óvulo con zona granulosa y membrana pellúcida; *m,* óvulo casi maduro con su membrana pellúcida *(e),* con acúmulo ovigero *(i)* y su zona granulosa epitelial periférica *(b);* A, epitelio germinal; B, células intersticiales.

á una mitosis; después, este cordón cromático se divide en doce cromosomas regulares, cada uno de los que representa dos bastones cromáticos, pues, según se sabe, el número normal de éstos en las células humanas es de veinticuatro. Dichos dobles cromosomas adoptan forma de anillo, conforme se observa en todo óvulo que se prepara para el proceso de maturación (véase la *profase* del fenómeno de maturación en la ovogonia, páginas 250 y 251, así como la profase en los espermatocitos, página 255, etc.), y á veces tales anillos se adelgazan y prolongan,

disponiéndose en 8 de guarismo. Después de estas metamorfosis el núcleo recobra su estado de reticulación.

4.ª *Fase de vesícula embrionaria.*—El óvulo aumenta de volumen y se rodea de dos membranas: una fina y granulosa (*membrana primordial)* que envuelve el protoplasma, al cual adhiere íntimamente, y otra que aparece en un período ulterior. Esta última capa es espesa como una cápsula, y ha recibido el nombre de *membrana secundaria* ó *zona pellúcida*. En su espesor se ven finos conductitos radiados, por los cuales, según Flemming,

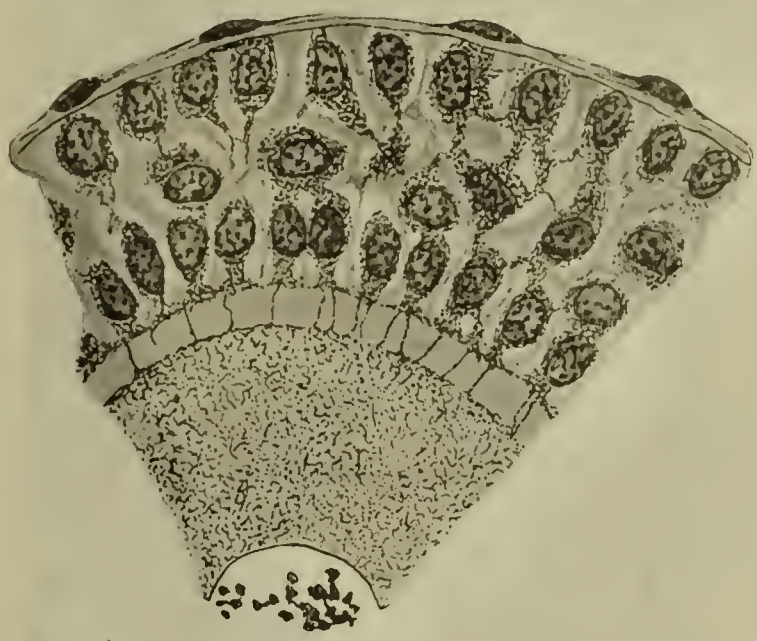

Fig. 479.—Trozo de óvulo y del estrato epitelial folicular del conejo. Detalles de la unión del epitelio folicular con el protoplasma del óvulo. (Según Retzius).

pasarían expansiones protoplásmicas destinadas á poner en comunicación el protoplasma del óvulo con las células epiteliales inmediatas. También Retzius (1913) sostiene modernamente esta opinión, gráficamente expuesta en la figura 479. En torno del óvulo las células epiteliales pequeñas se han multiplicado á beneficio de mitosis, engendrando dos ó más capas concéntricas de corpúsculos poliédricos, pobres en protoplasma y estrechamente unidos por sus caras. Del lado del estroma se desarrolla

una membrana basal, sobre la cual se extiende una red capilar tupida (fig. 478, *c*).

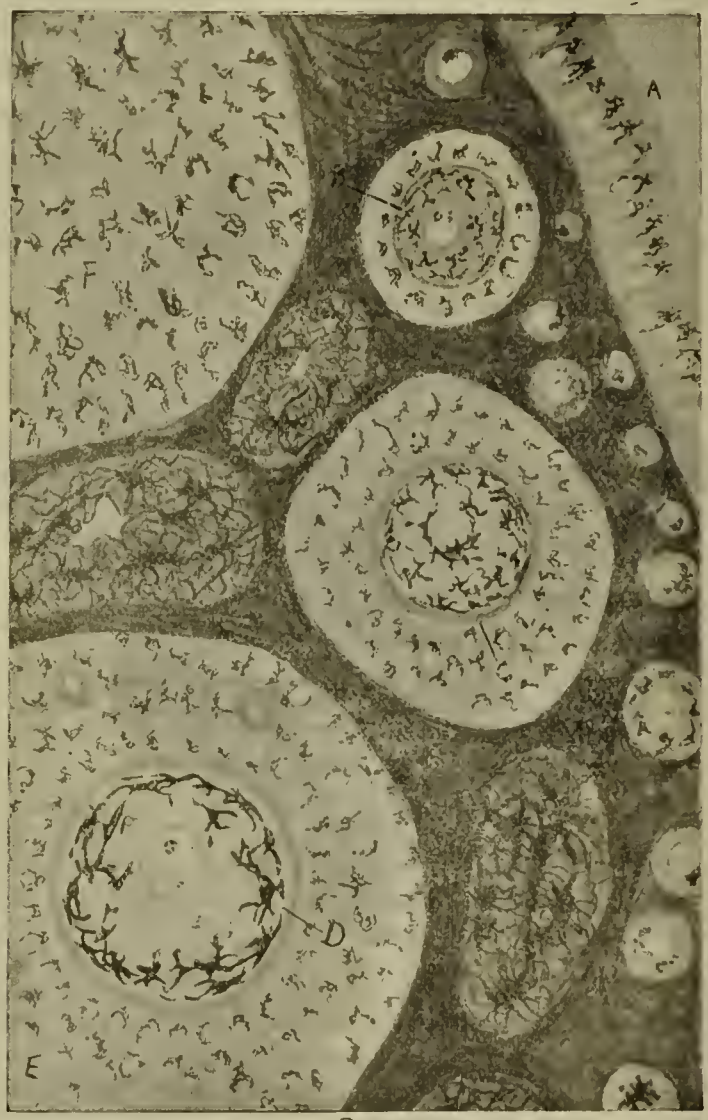

Fig. 480. — Aparato de Golgi en las células del ovario de la coneja.—A, epitelio de revestimiento; B, óvulo embrionario; C, óvulo más desarrollado; D, óvulo casi maduro; E, células foliculares; F, *corpus albicans*. (Según Río Hortega).

5.ª *Fase de la vesícula adulta.*—La vesícula de Graaf alcanza gran desarrollo, creciendo en todas direcciones y principalmente hacia afuera. La formación epitelial peri-ovular acrecienta, por mitosis, el número de sus estratos, al propio tiempo que

en el seno del epitelio se engendran varios espacios llenos de plasma. Tales espacios, que crecen incesantemente y acaban por confluir en uno mucho mayor, separan dos regiones ó zonas epiteliales: la *zona granulosa* ó epitelial periférica, situada por debajo de la pared folicular, y compuesta de varias hileras de pequeños elementos poliédricos (fig. 478, *b)*, y el *cúmulo ovígero* ó zona epitelial interna, sistema de capas celulares que envuelven inmediatamente el óvulo *(i)*. Entre la formación interna y externa se observan siempre uno ó varios puentes de corpúsculos epiteliales, especie de cordón umbilical que mantiene el óvulo en su posición.

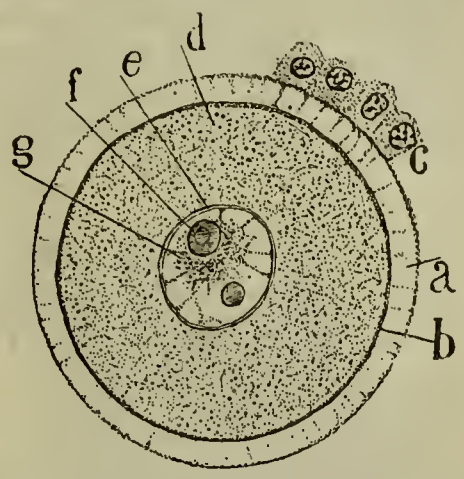

Fig. 481.—Óvulo casi maduro de coneja.—*a*, membrana aislable ó cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo; *c*, capa epitelial interna que parece enviar expansiones á través de la cápsula.

Entre las células foliculares se notan además áreas claras, más ó menos redondeadas, en torno de las cuales adquiere el epitelio orientación radiada. Son depósitos de un material especial segregado, designados *cuerpos de Exner*.

En cuanto al óvulo maduro, es una célula esférica, de una ó dos décimas de milímetro de diámetro. Su protoplasma (*vitellus)*, ofrece, á más de granos grasientos, un retículo pálido, inserto, de una parte, al núcleo y de otra á la membrana primaria. El núcleo *(vesícula germinativa)* es notable por su tamaño (30 á 40 μ de diámetro), su excentricidad, su gruesa membrana acromática, su carencia de red de nucleína (pues sólo presenta algunos granos tingibles apenas por la hematoxilina) y, sobre todo, por la existencia de uno ó varios corpúsculos hialinos, colorables por los reactivos de la nucleína y limpiamente contorneados *(nucleolos* ó *manchas germinativas)* (fig. 481, *f)*.

Núcleo vitelino. — Los óvulos inmaturos contienen en su protoplasma un corpúsculo especial de naturaleza enigmática, el *núcleo*

vitelino de Balbiani. En los invertebrados, singularmente en la araña, preséntase voluminoso y bien acusado, exhibiendo una masa obscura central y una infinidad de láminas concéntricas. En los mamíferos no falta tampoco, residiendo cerca del núcleo y afectando forma esférica y contorno riguroso (fig. 482, *c*, y 483, *a*).

Buen número de autores atribuyen al núcleo vitelino origen nuclear; sin embargo, hay animales en que parece representar una diferenciación citoplasmática. En todo caso la vida de este corpúsculo es efímera; cuando se aproxima la madurez del óvulo, se hincha, fragmenta y disemina, perdiéndose en el seno del protoplasma. Según Bambeke y van der Stricht, su desaparición coincidiría con la creación de granos ó reservas alimenticias en el citoplasma, en cuya producción tendría positiva influencia.

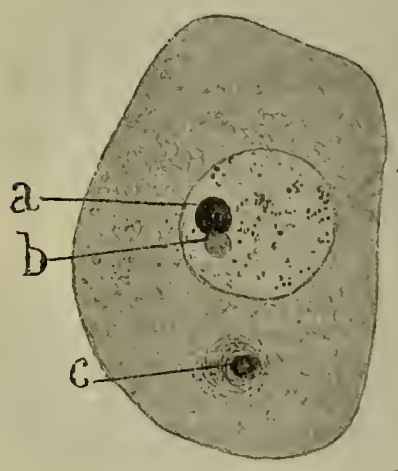

Fig. 482. — Óvulo de la *Tegenaria domestica*.—*a*, nucleolo ordinario; *b*, nucleolo accesorio; *c*, núcleo vitelino ó cuerpo de Balbiani.

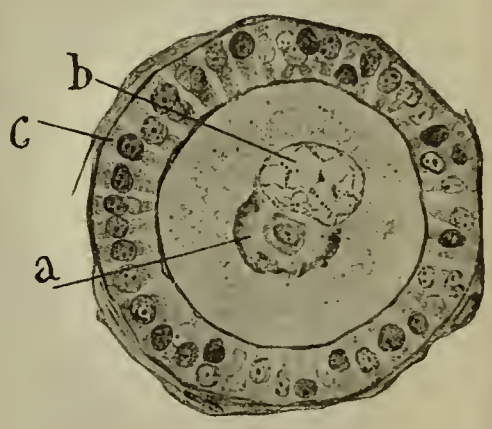

Fig. 483. — Óvulo de murciélago. — *a*, núcleo vitelino ó cuerpo de Balbiani; *b*, núcleo; *c*, células foliculares (según Branca).

Hoy se sabe que el cuerpo vitelino ó núcleo de Balbiani contiene una pareja de centrosomas. Por lo cual es muy verosimil que este cuerpo represente el *idiozoma* de las espermatogonias.

Las reservas protoplásmicas son numerosísimas, afectando formas varias (esferas, bastoncitos, placas, etc.), según los animales, y cargándose á menudo de una materia grasienta, coloreable por el ácido ósmico (granos *deutoplasmáticos*).

Aparato de Golgi. — Ha sido estudiado especialmente por Río Hortega (1913), aunque acerca de su disposición en las diversas etapas del óvulo hallamos ya indicaciones en van der Stricht (1904) y, sobre todo, Sjovall (1906) y Weigl (1912) y Kulesch (1914).

Como aparece en la figura 477, *g*, la disposición de este aparato varía según la fase evolutiva. En la de folículo primordial y antes aún, cuando el ovocito se contiene en los cordones de Pflüger, preséntase localizado en forma de red yuxtanuclear (fig. 477); pero cuando el óvulo, ya modelado, se rodea de acúmulos de corpúsculos epitélicos, los cordones se dispersan por todo el protoplasma, fragmentándose en trozos á veces muy pequeños.

Según aparece en la figura 480, D, cada grumo disperso exhibe á menudo pequeñas radiaciones. Esta dispersión del material constitutivo del aparato de Golgi, ha sido también observada por Weigl (1912), en los ovocitos (método de Golgi y de Kopsch.).

Variedades de óvulos.—Por la cantidad y modo de repartición de las reservas nutritivas del protoplasma ovular, se han distinguido muchas categorías de óvulos. Así, Eternod los clasifica en *paulecitos, centrolecitos, telolecitos* y *metalecitos*.

Los *paulecitos* constan de vitelus formativo y nutritivo mezclado por igual. El núcleo es central *(Anfioxus)*.

Los *centrolecitos* poseen deutoplasma central perinuclear, quedando la periferia del soma destinada al protoplasma formativo (ciertos insectos).

Telolecitos desígnanse los óvulos cuyo protoplasma se divide en dos partes ó polos: uno *superior (polo animal)* formado por un disco de protoplasma desprovisto de reservas donde se aloja el núcleo *(disco germinativo, cicatrícula,* etc.); y otro *inferior*, representado por abultada masa de protoplasma henchido de granulaciones alimenticias. Semejante disposición polar corresponde al óvulo de las aves, reptiles y peces óseos.

En fin, los *metalecitos* constan de protoplasma formativo con indicios de deutoplasma ó granos alimenticios. El núcleo es central. Tal es el óvulo de los mamíferos, que no necesita reservas nutritivas, porque el embrión las hallará de sobra en la placenta. Parecidas clasificaciones hacen Balfour, Henneguy, etc.

El folículo de Graaf está limitado por una membrana delgada, anhista, reforzada exteriormente por fascículos conectivos y células aplastadas. Sobre ellas residen los capilares, constituyendo una red membranosa apretada. Entre las vesículas de Graaf se ven, á más de fascículos conectivos y capilares, elementos constitutivos del estroma, multitud de células poliédricas, más ó menos acumuladas, ricas en gránulos y comparables á las *perivasculares* ó á las *intersticiales* del testículo. Su significación y origen permanecen en la obscuridad. En general, se

reputan de naturaleza conectiva, por más que Nussbaum las haga proceder del epitelio germinal, del que serían formas abortadas.

6.ª *Fase de maturación.* — Cuando el óvulo alcanza su adultez la membrana folicular se hace progresivamente superficial, distiéndese notablemente y se rompe. Esta ruptura tiene lugar al nivel de una región de la pared vascular desprovista de vasos y adelgazada *(Estigma).*

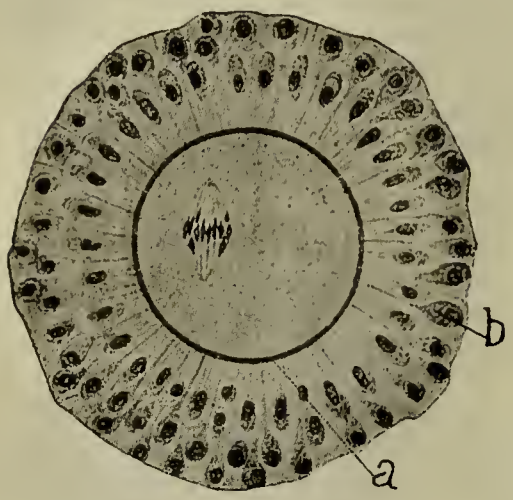

Fig. 484. — Óvulo de ratón en vías de maturación. — *a*, zona pellúcida; *b*, células foliculares (según Sobotta).

Caído en la trompa, el ovocito inicia su maturación, eliminando, según el mecanismo ya estudiado más atrás (pág. 250), la mitad de los cromosomas, y reduciéndose, por tanto, á 12 los 24 con que cuentan los núcleos de las ovogonias. Por lo demás, los detalles de tal proceso conócense mejor en los animales que en el hombre y demás mamíferos. De todos modos, las investigaciones de Sobotta en el ratón, de van der Strich en el murciélago, de Doorne y Lams en el cobaya, etc., confirman en sus líneas generales las conclusiones sacadas del análisis de la maturación en el *ascaris megalocefalia* y otros invertebrados.

En la figura 484 mostramos una figura de Sobotta en que aparece la primera división de maturación en el ratón. Nótese cómo los anillos cromosomáticos se alargan para escindirse en dos mitades. Durante la formación del 2.º corpúsculo polar la operación se repite.

En tanto que ocurren en el núcleo estos fenómenos, el protoplasma se organiza de cada vez más complicadamente. Periféricamente exhibe una zona estrecha y obscura (*vitellus formativo*), mientras que la parte central, clara y como reticulada, re-

vela gran cantidad de reservas alimenticias (*deutoplasma*). Las mitocondrias, antes poco visibles, se hacen aparentes, disponiéndose en series poligonales, según ha demostrado van der Strich en el óvulo humano.

En fin, en la figura 467 reproducimos el esquema que permite comparar la evolución del ovocito con el espermatocito. Repárese la igualdad esencial de ambos procesos, espermatogénico y ovogénico, salvo el crecimiento mayor del ovocito antes de la eliminación de los cuerpos polares, y la circunstancia de que éstos, á diferencia de los eliminados por los espermatocitos, son elementos atróficos destinados á la destrucción.

Atresias ovulares y cuerpos amarillos. — No todas las ovogonias diferenciadas en los cordones de Pflüger se aprovechan convirtiéndose en ovocitos, á su tiempo emigrados hacia la cavidad de la trompa. La inmensa mayoría de ellas sufre en el ovario, durante la fase de folículo primordial ó de folículo adulto, un curioso proceso de atrofia y degeneración que se ha designado *atresia folicular*. Antes de morir, el óvulo sufre la degeneración grasosa ó la granulo-protéica. En cuanto á las células foliculares, parecen reabsorberse también. Según los cálculos de Waldeyer, de 100.000 óvulos contenidos en los ovarios de la niña, sólo llegan á sazón y franquean el pabellón de la trama unos 440.

Cuando una vesícula de Graaf madura se rompe y expulsa el óvulo, el folículo así lesionado sufre un proceso degenerativo especial que aboca á la formación de unos cuerpos globulosos de color amarillento, que se designan *cuerpos amarillos*. Este color lo deben á que después de la dehiscencia del folículo derrámase cierta cantidad de sangre en el interior de éste, la cual sufre diversas metamorfosis. Además, la pared de la vesicula se hipertrofia y repliega, formándose sucesivamente más fibrosa y como de consistencia y caracteres de cicatriz.

Glándula tiroides. — Es el tipo de las vesiculares. En medio de un estroma conectivo ofrece esta glándula vesículas cerradas, de 40 á 90 μ de diámetro, llenas de un líquido homogéneo, ligeramente amarillento, cuya consistencia aumenta con la edad, llegando á ser gelatiniforme. La superficie interna de las vesí-

culas está revestida por una sola capa de células cuboides de anchura variable. Entre ellas aparece claramente una banda de cierre. Negri ha teñido el aparato reticular de Golgi (fig. 485, *a*).

En fin, Heidenhain ha mostrado la existencia cerca de la superficie libre celular de un diplosoma característico *(b)*. Una red capilar tupida circuye las membranas vesiculares.

La glándula tiroides es el tipo de las llamadas *vasculares sanguíneas,* es decir, de aquellas que, por carecer de conducto excretor, vierten directamente en la sangre el producto elaborado. Este producto no ha sido todavía aislado, pero se sabe, merced á los experimentos de Hofmeister, Eiselberg y otros, que ejerce una gran influencia sobre la nutrición, puesto que en los conejos, carneros y cabras jóvenes, la extirpación de aquel órgano produce una suspensión del desarrollo. En el mono y el hombre la falta del cuerpo tiroides determina el mixedema.

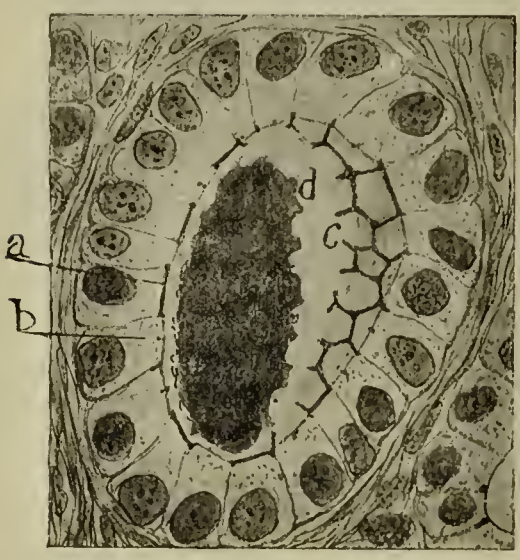

Fig. 485.—Corte de una vesícula del cuerpo tiroides del conejo (de una preparación de Heidenhain). Método de la hematoxilina ferruginosa. — *a*, banda de cierre; *b*, centrosoma de las células epiteliales cuboideas limitantes de cada vesícula.

Los animales privados de dicho cuerpo se restablecen rápidamente si son alimentados con el jugo ó con pedazos de la glándula tiroidea (Herthoge, Bourneville, Gómez Ocaña, etc.).

Glándulas macizas. — Caracterizadas por carecer de hueco secretorio y de conducto excretor, estos parénquimas, incluidos generalmente entre las *glándulas vasculares sanguíneas,* son relativamente poco conocidos. En tal dominio, la fisiología va delante de la histología, porque casi todo lo importante que de las citadas glándulas sabemos, debémoslo á la experimentación fisiológica y á las observaciones clínicas. Rasgos histológicos

comunes son: constar de islotes ó aglomeraciones de elementos epiteliales, más ó menos claramente poliédricos; exhibir una red capilar muy rica y frecuentemente cavernosa, y, en fin, alojar entre los islotes una trama conectiva equiparable á la intersticial de las glándulas comunes. Dentro de esta norma estructural, cada tipo de glándula cerrada presenta caracteres propios, á veces acentuadamente específicos.

Cuéntanse entre las glándulas cerradas: el *timo,* la *suprarrenal,* las *paratiroideas,* el *cuerpo pituitario,* la *glándula pineal,* la *intercarotídea,* la *coxígea,* etc. Las mismas glándulas comunes ó de conducto excretor encierran, á veces, conglomerados celulares considerados hoy como órganos de secreción interna. Recordemos entre otros: las *células intersticiales* del ovario y del testículo, y los *islotes de Langerhans* del páncreas. En fin, estiman los fisiólogos que determinados segmentos de las glándulas comunes, por ejemplo, los *conductos flexuosos* del riñón, son susceptibles de elaborar principios destinados á la absorción. Semejantes imbricamientos funcionales hacen imposible, en el orden fisiológico, trazar una línea divisoria bien acusada entre las glándulas comunes y las vasculares sanguíneas propiamente dichas, siendo muy posible que todos los elementos epitélicos, de cualquier orden que sea, liberen alguna substancia difusible y provechosa á la economía orgánica. Consignemos sumariamente algunos datos acerca de las glándulas macizas principales.

Timo. — Muy desarrollado en el niño recién nacido, atrófiase desde los dos primeros años de la vida, siendo verosímilmente sustituído en sus funciones por el bazo y ganglios linfáticos. Reside en la parte inferior del cuello, por delante de la tráquea, prolongándose hasta el interior del tórax, y consta de dos lóbulos laterales unidos por un istmo intermedio transversal.

La sección de un lóbulo revela cierta cubierta fibrosa, de la cual parten tabiques internos divisores del parénquima en departamentos lobulillares primarios y secundarios. En cada sector ó lobulillo secundario se aloja una masa ó folículo cuya estructura recuerda mucho el de los ganglios linfáticos. Según mostramos en la figura 486, *c,* consta el folículo de: a) *corteza*

compacta, donde aparecen células menudas, apretadas, poliédricas y en un todo comparables á leucoblastos, las cuales yacen separadas á favor de retículo conectivo delicado; y b) de *substancia medular,* formada por un retículo colágeno, flojo y delicado, en cuyas anchas mallas destacan elementos semejantes á linfocitos, y habitan además algunos nidos de corpúsculos, de aspecto epitélico, dispuestos en capas concéntricas, y llamados *cuerpos concéntricos de Harsall.* De ordinario, cada nido se compone de un elemento central grueso, salpicado de esférulas cromófilas y de corpúsculos satélites periféricos, aplastados y

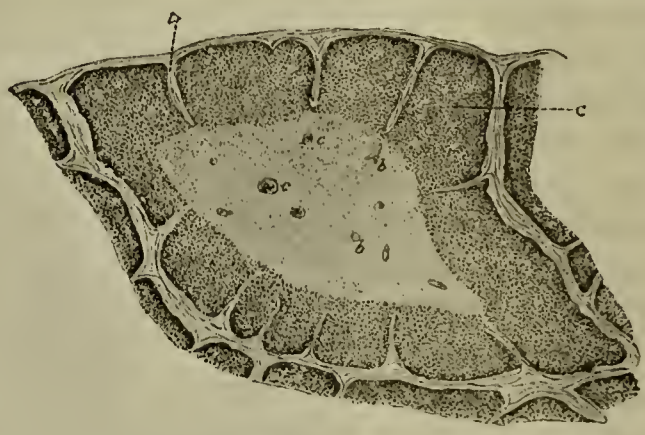

Fig. 486. — Corte de un lóbulo del timo del niño (según Schäfer).

arqueados. En la figura 487 mostramos el retículo celular de la región central de un folículo con algunos linfocitos albergados en sus mallas. Con menos aumento, muéstranse en la figura 486 los enigmáticos *cuerpos de Harsall.*

Cápsula suprarrenal. — Trátase de una glándula pequeña, emplazada sobre la extremidad superior del riñón.

A semejanza del timo, intégranla: una cápsula fibrosa de que brotan tabiques interiores radiados, casi paralelos, formados por estroma conectivo portador de vasos sanguíneos, y un parénquima epitélico rellenador de los huecos.

El análisis de este parénquima en las secciones radiales permite distinguir, aparte la cápsula fibrosa (fig. 488, *a*), tres capas glandulares concéntricas, á saber: La *glomerulosa,* formada por columnas glandulares terminadas periféricamente en asas

de concavidad interna *(b)*. La *fasciculosa* ó columnar, de tono amarillento y dividida en cartuchos epitélicos paralelos, que recuerdan algo la porción medular del riñón *(c)*. Cada columna se compone de series apretadas de corpúsculos poliédricos, en cuyo protoplasma destacan pequeñas esferas de un material lipoide (Schäfer) *(b)*. El método del urano-formol permite descubrir (gato y conejo jóvenes, etc.) un pequeño aparato reticular de Golgi situado en la vecindad del núcleo de todos los elementos glandulares. En fin, la *zona medular ó reticular*, de color rojo, consta de cilindros anastomosados en red (figura 488, *d)*. Sus elementos epitélicos encierran asimismo una substancia especial segregada y atraen vivamente las anilinas (células *cromófilas)* y la hematoxilina (Kolmer, 1912). Un sistema vascular tupido, intercalado de senos venosos, toca íntimamente á las columnas epitélicas (Schymonow).

Fig. 487.—Porción medular del timo humano (feto), según Hammar.

La materia elaborada por la glándula suprarrenal, es decir, la *adrenalina*, goza de gran influencia sobre el aparato vascular. A pequeñas dosis, el extracto de la glándula inyectado en los vasos produce brusco aumento de la contracción del corazón y fibras lisas de las arterias, y, por tanto, incremento notable de la presión arterial (Schäfer, Langley). Extirpadas las suprarrenales, altérase la nutrición, sobreviniendo gran postración y la muerte. En fin, modificaciones patológicas del parénquima,

aún no bien esclarecidas etiológicamente, provocan en el hombre fuerte pigmentación cutánea *(enfermedad bronceada* de Adisson).

Paratiroidea. — En 1880 descubrió Sanström ciertos acúmulos celulares, macizos, de carácter epitélico, situados á entrambos lados de la glándula tiroidea, junto al lóbulo lateral de ésta y á veces empotrados ó embebidos en su espesor (figura 489, *pp).* Aunque pequeñísimas, estas glandulillas llamadas *paratiroideas,* gozan de suma actividad, puesto que su extirpación, sobre todo en los carnívoros, provoca graves fenómenos de tetania.

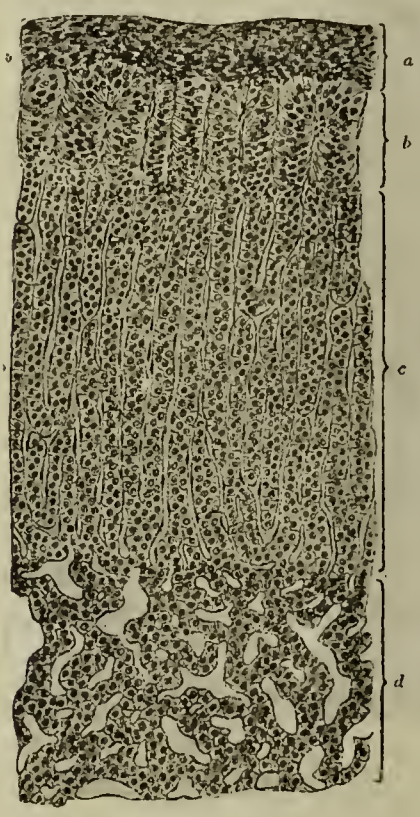

Fig. 488. — Sección de la glándula suprarrenal del perro (según Böhm y Davidoff).

El carácter estructural responde al tipo histológico de la suprarrenal. Trátase de columnas ó nidos epitélicos anastomosados exentos de cavidad interior, embebidos en una trama reticular delicadísima, portadora de capilares y bien estudiada por Livini (1909). La figura 490, tomada de Köhn, da idea de la forma y composición de los citados cilindros epitélicos y revela, sobre todo, la gran amplitud de los capilares intersticiales *(cap.),* cuyo endotelio reviste casi directamente la superficie de aquéllos *(end.).*

Según Welsch y Rulison, los corpúsculos glandulares diferéncianse en dos categorías: *pálidos,* abundantes y ricos en protoplasma, y *cromófilos,* más raros y anchos, portadores de gránulos interiores identificables acaso con el producto de secreción interna. Imagínase por varios autores que los dos citados tipos, entre los que no son raras las transiciones, corresponden á fases

fisiológicas de un mismo corpúsculo glandular. En fin, en el gato y perro jóvenes las células glandulares revelan un aparato de Golgi bien desarrollado.

Desde el punto de vista embriogénico, tiroides y paratiroides pertenecen á la misma estirpe y se desarrollan de igual manera. Los estudios de Gley, Vincent y Jolly revelan que si se extirpa el tiroides del gato, la paratiroides produce formas vesiculares con tendencia á reconstruir el órgano ausente.

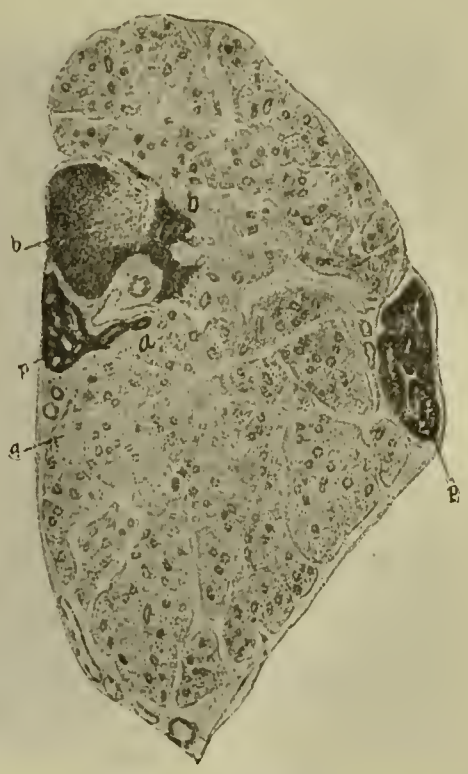

Fig. 489. — Sección transversal del lóbulo izquierdo del tiroides del gato de dos meses (según Köhn). — *pp*, paratiroidea; *a*, cuerpo tiroides.

Cuerpo pituitario. — Este órgano piriforme, mitad nervioso, mitad glandular, reside en la foseta de la *silla turca* del esfenoides. Un corte anteroposterior medio permite diferenciar dos *lóbulos ó porciones:* la *anterior ó lóbulo glandular* (fig. 491, *d*), y la *posterior ó lóbulo nervioso (h)* en continuación, mediante un pedículo, con el *tuber cinereum* del cerebro. Entre ambos lóbulos queda un espacio libre revestido por el epitelio glandular *(g)*, que en el hombre y mamíferos de gran talla se complica, organizándose en sistema de divertículos llenos de líquido. Esta región ha recibido el nombre de *porción intermedia ó intestinal* (*Darmteil*, de ciertos autores alemanes).

a) *Lóbulo nervioso.*—Contiene principalmente, según demostramos hace tiempo mediante el método de Golgi, un plexo nervioso amedulado sumamente tupido, despliegue terminal de cierto haz de axones arribados del cerebro por el citado pedículo.

En los huecos de este plexo residen ciertas diminutas neuronas multipolares, de cortos apéndices, sin expansión nerviosa diferenciable, y cuya verdadera naturaleza se ignora todavía. El plexo nervioso intersticial, negado por muchos histológos, ha sido confirmado mediante los métodos neurofibrillares por Thaon, Gemelli, Gentes, Joris, Pendes (1911), y sobre todo por Tello (1912) que ha dado de sus fibras una buena descripción (hom-

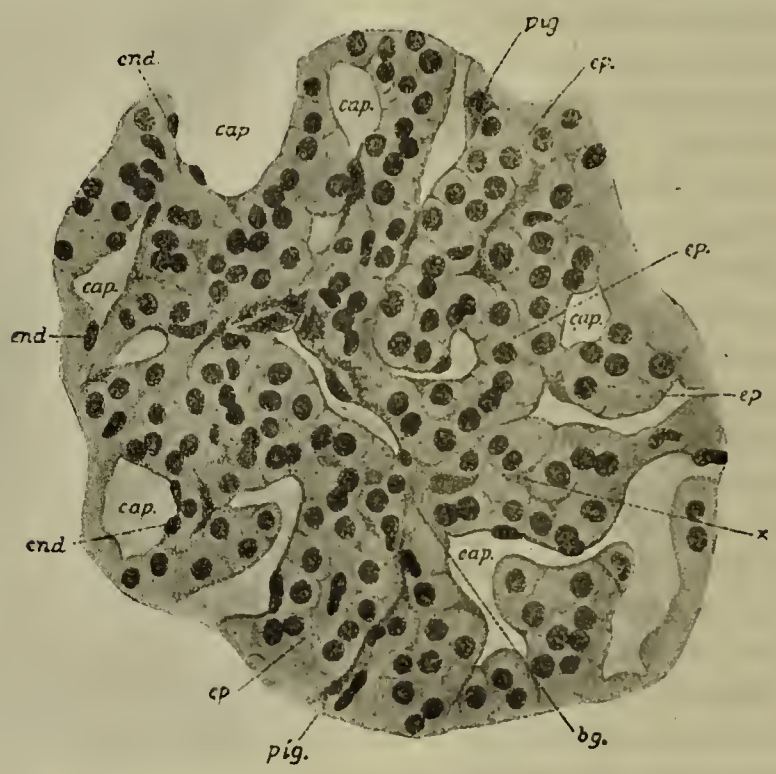

Fig. 490. — Sección de paratiroidea (según Köhn). — *ep.*, epitelio secretor; *pig.*, células con pigmento; *cap.*, capilares con dilataciones en seno; *end.*, células endoteliales limitantes de los vasos.

bre), señalando curiosas metamorfosis degenerativas en los extremos axónicos (bolas colosales, pelotones de retoños en torno de vasos, etc.). Algunos autores (Retzius, Berkley, etc.) describen elementos de neuroglia. Diversos sabios (Schäfer, Stendell (1913), etc.) señalan además la presencia de mazas hialinas.

b) *Lóbulo glandular.*—Representa la glándula vascular sanguínea del cuerpo pituitario, y se compone de conglomerados y columnas macizas de epitelio, dispuestas al modo de los elemen-

tos de la *paratiroides*, en vasta red, cuyos intervalos rellena densa trama conectiva surcada de capilares. Sobre la estructura y cualidades fisiológicas de las células glandulares reina todavía gran incertidumbre. Diversos autores han descrito en ellas granulaciones de propiedades tintóreas y calidad fisiológica diferente. En general distínguense dos categorías: *células cromatófi-*

Fig. 491. — Sección media á través del cuerpo pituitario del mono adulto, según Hering (esquema). — *b*, prolongación lingual de la porción intermediaria; *d*, lóbulo anterior ó glandular; *f*, revestimiento epitelial del lóbulo posterior ó parte intermedia; *g*, hueco interglandular; *h*, lóbulo nervioso ó posterior.

las, ávidas de la hematoxilina y anilinas y henchidas de granos, interpretados por algunos autores como mitocondrias; y *células pálidas* ó débilmente coloreables por los citados reactivos. Gemelli diferencia todavía las cromatófilas en *acidófilas, basiófilas* y *mixtas*, distinción que adopta en principio Schäfer (1913). No faltan autores, como Benda, Saint Remy y Schäfer, que estiman ambas modalidades corpusculares como fases de la misma

función. Mediante el método de Achúcarro ha encontrado Tello (1), además de los gránulos intraprotoplásmicos bien conocidos, cierto retículo específico muy semejante al neurofibrillar

Fig. 492. — Algunos cordones glandulares de la hipófisis humana teñidos por el método de Achúcarro. — *a*, célula de retículo denso; *b*, ídem de retículo laxo; *c*, ídem de granulaciones fuertemente impregnadas; *d*, ídem pálidas; *v*, vaso (según F. Tello).

de las neuronas, y del que damos copia en la figura 492, *a*. Sobre la naturaleza de este delicadísimo esqueleto no se decide el autor, inclinándose, no obstante, en contra de su naturaleza ner-

(1) *F. Tello:* Algunas observaciones sobre la histología de la hipófisis humana. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

viosa, vista la imposibilidad de colorearlo con los métodos de Bielschowsky y nuestro (para las neurofibrillas). En su interesante Memoria, Tello da también, según mostramos en la figura 492, una excelente imagen del tejido conectivo intersticial, separatorio de los acúmulos glandulares (método de Achúcarro). En fin, Gemelli, Tello y Fañanás observan en los citados elementos una típica red de Golgi, confinada cerca del núcleo y en nada semejante al retículo descubierto por Tello.

c) *Porción intermediaria.* — En los animales de pequeña talla, por eemplo, el ratón, el espacio plasmático existente entre ambos lóbulos es liso, apareciendo revestido por un epitelio prismático monoestratificado; mas en el hombre, según dejamos dicho, este revestimiento se complica en repliegues y cavidades vesiculares cerradas, llenas de una materia coloide y de detritus y ruinas celulares.

Nuestras ya antiguas investigaciones (1894) enseñaron que el epitelio de la porción intermedia posee carácter de órgano sensorial, puesto que además de contener ciertas células que bien pudieran estimarse homólogas de las epitélicas sensoriales (del órgano de Corti, por ejemplo), sorpréndense también arborizaciones nerviosas libres, terminadas entre los elementos del revestimiento epitelial y procedentes de fibras llegadas del lóbulo nervioso. Gemelli y Tello han confirmado la existencia de estas ramificaciones nerviosas mediante el empleo de los métodos neurofibrillares. Pero sólo este último sabio ha precisado la forma y disposición de los corpúsculos sensoriales, así como sus conexiones con las últimas radículas nerviosas. Aparte de las dicotomías interepitélicas, ya observadas hace tiempo por nosotros, describe Tello dentro del epitelio ciertos corpúsculos sensoriales piriformes, escasos en protoplasma, de esqueleto neurofibrillar delgado y concentrado en torno del núcleo, y provistos de un pedículo acabado, bien en la frontera profunda del epitelio, bien algo más allá, es decir, en pleno tejido conectivo, á favor de una esfera ó bulbo libre. Con este bulbo entran principalmente en contacto las ramas nerviosas aferentes, distribuídas en el epitelio de la *pars intermedia.*

Las funciones de la glándula pituitaria ó hipófisis distan mu-

cho de estar esclarecidas. Integrado el órgano por dos lóbulos de origen diverso (el lóbulo *glandular* procede del epitelio bucal, y el *nervioso,* del conducto neural), de suponer es que su fisiologismo sea también diferente. Como primera aproximación, demostróse hace tiempo por Marie y Marinesco una relación estrecha entre la hipertrofia del cuerpo pituitario y la acromegalia. Pero los fisiólogos modernos pretenden ir más allá, precisando el papel de cada factor de la citada simbiosis pituitaria. Así Schäfer (1913), que ha consagrado á la fisiología de este órgano varios estudios, asigna al *lóbulo anterior* ó glandular un papel esencial en el crecimiento general del cuerpo y singularmente del esqueleto; en tanto que el *lóbulo nervioso* y *porción intermedia* elaborarían ciertos *hormones* capaces de excitar el tono de los músculos lisos y promover la actividad de algunas glándulas como el riñón y la mamaria *(pituitina* ó *hipofisina).* Sospéchase que este hormón de los músculos de fibra lisa es elaborado por el epitelio de la *parte intermedia.* Los desórdenes de crecimiento, por ejemplo, la acromegalia, el gigantismo, etc., dimanarían de la hipersecreción específica del lóbulo glandular (Fischer, Frank, Schäfer, Hoppe, Stendell, etcétera).

Glándula pineal ó epífisis.—Encima y detrás del ventrículo medio, delante del tubérculo cuadrigémino anterior, y envuelta en un repliegue de la *pía,* yace la *glándula pineal,* de figura cónica, color rojizo y consistencia blanda. Aunque adherida al cerebro y sujeta á una vía nerviosa transversal (la *comisura interhabenular),* no recibe este órgano fibras nerviosas del encéfalo, sino del gran simpático, al modo de las glándulas vasculares sanguíneas.

Un corte de la epífisis revela tres factores constitutivos: los *islotes epitélicos,* la *trama conectivo-vascular* y el *plexo nervioso terminal.*

a) Los *islotes epitélicos* afectan la disposición, tantas veces descrita, de nidos y columnas macizas anastomosadas. Sus células integrantes aparecen gruesas, poliédricas, unas veces pálidas, otras provistas de inclusiones cromatófilas.

Pero además de los corpúsculos glandulares propiamente di-

chos, los conglomerados epitélicos encierran legítimas neuronas, ya sospechadas por Henle y Hagemann, y descritas detalladamente por nosotros (1895) en los pequeños mamíferos jóve-

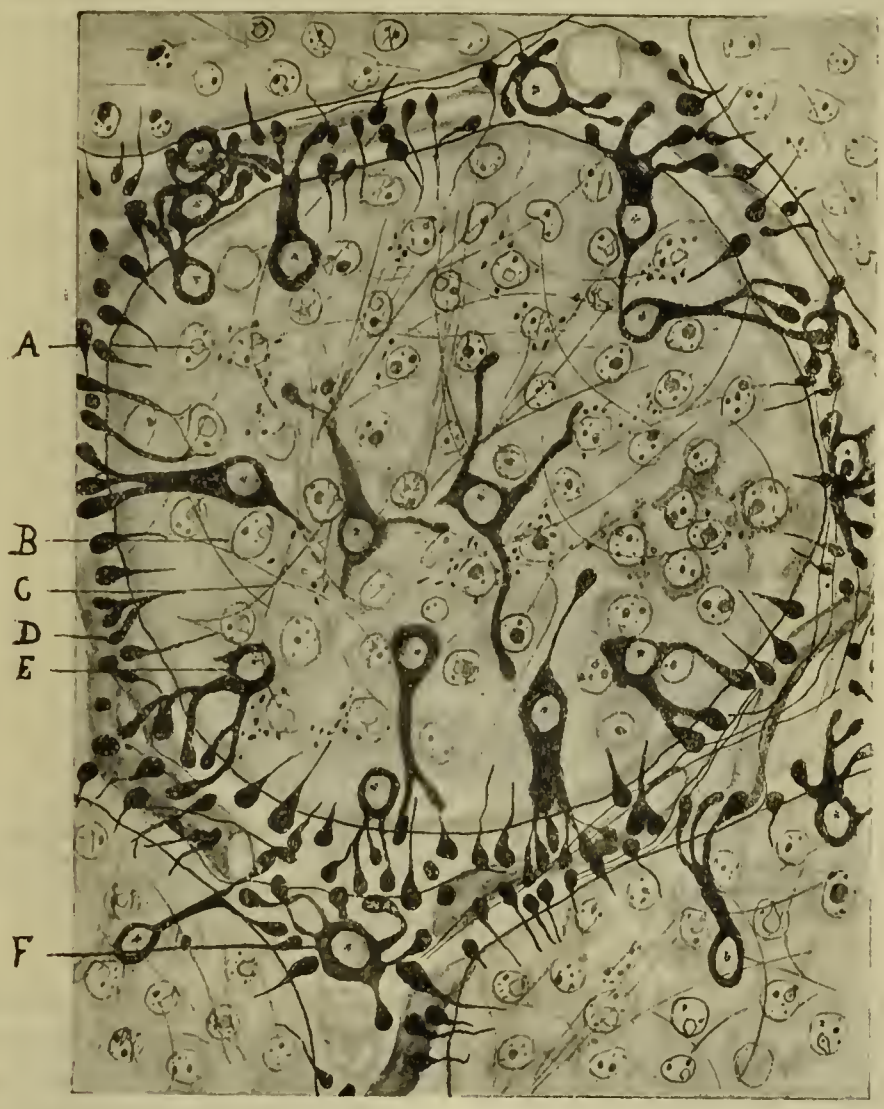

Fig. 493. — Diseño esquemático de la estructura de la glándula pineal humana. El lobulillo pineal, rodeado de los espacios perivasculares, consta de células nerviosas y de células neuróglicas; con fibras unas de estas últimas y con granos mitocondriales otras (según Achúcarro).

nes. Trátase de elementos multipolares exentos de axon, y cuyas expansiones indivisas ó sobriamente divididas acaban en un pequeño abultamiento. El método usado por nosotros (el de

Golgi) no permitía determinar las conexiones de tan singulares elementos, ni su morfología verdadera en el adulto. Achúcarro y Sacristán (1913) han cumplido brillantemente este programa, aplicando al argumento los procederes de Bielschowsky, Achúcarro y el nuestro del nitrato de plata reducido (1).

Fig. 494. - Glándula pineal humana. Método al tanino y plata amoniacal. Lobulillo pineal circunscrito por el armazón conectivo que rodea á los vasos. En el espesor del lobulillo se ve un retículo de fibras finas (según Achúcarro y Sacristán).

Demuestran estos sabios el contenido neurofibrillar de dichas células y, por tanto, su indiscutible carácter neuronal, y enseñan que sus apéndices divergentes acaban en mazas, á veces ramificadas digitiformemente, concurriendo todas las tumefacciones finales sobre las paredes vasculares. Créanse de este modo vastos sistemas de empalizadas nerviosas pericapilares, de cuya disposición da idea el esquema tomado de un trabajo reciente de Achúcarro (1914). Otro factor indubitable del parénquima

(1) *Achúcarro y Sacristán:* Zur Kenntnis der Ganglienzellen der menschlichen Zirbeldrüse. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, 1913.

de la epífisis es la neuroglia, que Achúcarro ha impregnado bien, tanto con su método como por el del sublimado-oro (fig. 493). Entre los astrocitos parecen dominar los de tipo fibroso.

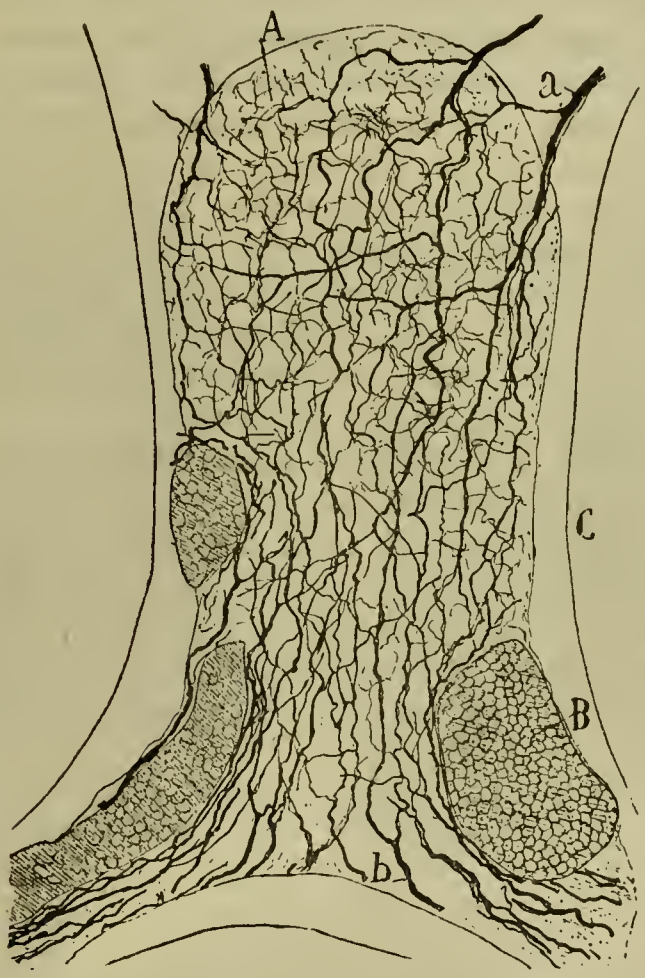

Fig. 495. — Corte frontal del conarium del ratón. (Método de Golgi). — A, plexo intersticial; *a*, fibras simpáticas que llegan por lo alto; *b*, fibras arribadas con las arterias inferiores; B, corte de un vaso venoso; C, corteza cerebral interhemisférica.

b) La *trama conectivo-vascular* es abundante. Además de los capilares aparecen en este estroma leucocitos, células pigmentarias redondas y ramificadas, fibras elásticas y, sobre todo, un denso retículo intersticial, coloreable por el proceder de Achúcarro, según aparece en la figura 494.

c) Finalmente, un *plexo nervioso intersticial* densísimo, de origen simpático (Henle, Cajal), llegado al parénquima con los repliegues de la *pía,* se esparce por el estroma, aplicándose íntimamente á los acúmulos epitélicos. Este plexo ha sido modernamente confirmado por Dimitrowa, Cionini, Zanca, Achúcarro y Sacristán, que se han servido de los métodos neurofibrillares. La figura 495, tomada del *conarium* del ratón joven, puede dar idea de la complicación y riqueza de esta urdimbre nerviosa, cuyas últimas ramillas entran quizás en contacto, tanto con los corpúsculos glandulares como con las neuronas estrelladas perivasculares. Fenómeno singular, difícilmente explicable, es el hecho, notado por Achúcarro y Sacristán, del gran número de fibras nerviosas varicosas ó acabadas en bolas colosales, con signos evidentes de degeneración.

La presencia en la epífisis de tan formidable plexo nervioso simpático y su total desvinculación de las vías nerviosas de origen cerebral, prestan sólido apoyo al carácter de glándula vascular sanguínea, otorgado generalmente á este órgano Pero, las células nerviosas perivasculares y los factores neuróglicos, cuyas mitocondrias ha observado Achúcarro, ¿qué papel desempeñan? He aquí problemas que sólo el porvenir podrá desentrañar.

CAPÍTULO XXXI

TEJIDO VASCULAR

Definición. — El tejido vascular es la trama especial de que están construídas las paredes de los tubos sanguíneos y linfáticos. En esta trama se asocian, en proporciones varias para cada especie vascular, tres tejidos simples: el epitelial, el conjuntivo y el muscular. El principal de tales factores es el epitelial, que jamás falta, constituyendo una membrana continua consigo misma, á la manera del endotelio de las serosas. Sobre esta membrana fundamental, y en aquellos parajes en que los tubos sanguineo-linfáticos reclaman mayor resistencia, elasticidad ó contractilidad, se depositan estratos de tejido conectivo y muscular que complican la simplicidad originaria.

Clasificación. — El sistema vascular comprende tres variedades histológicas: el *tejido capilar,* el de los *vasos gruesos* (venas y arterias) y el de los órganos glanduloides *vasculo-sanguíneos* ó vasculo-linfáticos (bazo y ganglios linfáticos).

VARIEDAD CAPILAR

Los capilares se distinguen en sanguíneos y linfáticos.

1.° **Definición.** — Los sanguíneos son tubos delgados, ordinariamente microscópicos, residentes en la trama de los órganos que enlazan las raicillas venosas con las últimas ramitas arteriales, y llevan el líquido nutritivo á la inmediación de las células.

2.° **Distribución general.** — Los capilares se entremezclan á todos los tejidos, excepto al cartilaginoso y al epitelial. Yacen comunmente á cierta distancia de las células, envueltos en una ganga conectiva. El *diámetro* de estos órganos varía mucho en

los diversos tejidos, y según el estado de plenitud ó de vacuidad, pues se atemperan á la cantidad de sangre que los atraviesa; puede evaluarse, sin embargo, en 8 á 30 μ. Los capilares más delgados residen en el pulmón, retina y tejido muscular, y los más gruesos en el hígado, tejido óseo, etc. La *forma* del capilar es la de un cilindro más ó menos aplastado. A veces, la superficie se presenta abollada con ensanchamientos cavernosos (capilares de los ganglios nerviosos y de los músculos rojos del conejo).

Los capilares se anastomosan en su itinerario, constituyendo redes cuya forma recuerda la disposición de los elementos histológicos á que se asocian. La angostura de la malla guarda relación con la actividad funcional del tejido: los más activos, como el glandular, nervioso y muscular, poseen redes apretadas y próximas á las células, mientras que los pasivos, como el óseo, fibro-cartilaginoso, tendinoso, etc., presentan mallas amplias y escasos capilares.

3.° **Caracteres microscópicos.** — Visto un capilar al microscopio, después de coloreado por el carmín, nos presenta el aspecto de un tubo hialino, homogéneo y sembrado de núcleos elipsoideos y aplastados. Para percibir los límites celulares y persuadirse de que cada núcleo corresponde á una individualidad celular, es preciso recurrir al nitrato de plata, que tiñe el cemento de unión, presentándonos campos irregularmente romboidales con el eje mayor paralelo al del capilar.

En los capilares delgados toda la estructura consiste en esta membrana endotelial, pero en los gruesos hay además por fuera del epitelio una capa de materia amorfa sembrada de núcleos (*túnica adventicia capilar*).

Recientes observaciones de Kolosow parecen establecer la existencia, entre las células endoteliales, de filamentos de comunicación. Entre ellos, el cemento flojo y distensible dejaría pasar fácilmente los glóbulos blancos de la sangre. Por lo demás, estos puentes habían sido ya sospechados por nosotros hace muchos años. Véase nuestro *Manual de Histología,* pág. 236, 1885.

Capilares linfáticos. — Estos son más gruesos é irregulares que los sanguíneos y constituyen también redes complicadas yacen-

tes en el espesor de los tejidos. La *forma* del capilar es irregularmente cilíndrica, con numerosas dilataciones y estrecheces. De la red emergen muchas veces, en sentido perpendicular al plano de la misma, expansiones prolongadas y terminadas en fondo de saco, como sucede, por ejemplo, en las vellosidades del intestino. Las redes linfáticas se entremezclan ordinariamente á las sanguíneas, pero á menudo en ciertas mucosas aquéllas ocupan un plano distinto y más superficial que éstas (fig. 496).

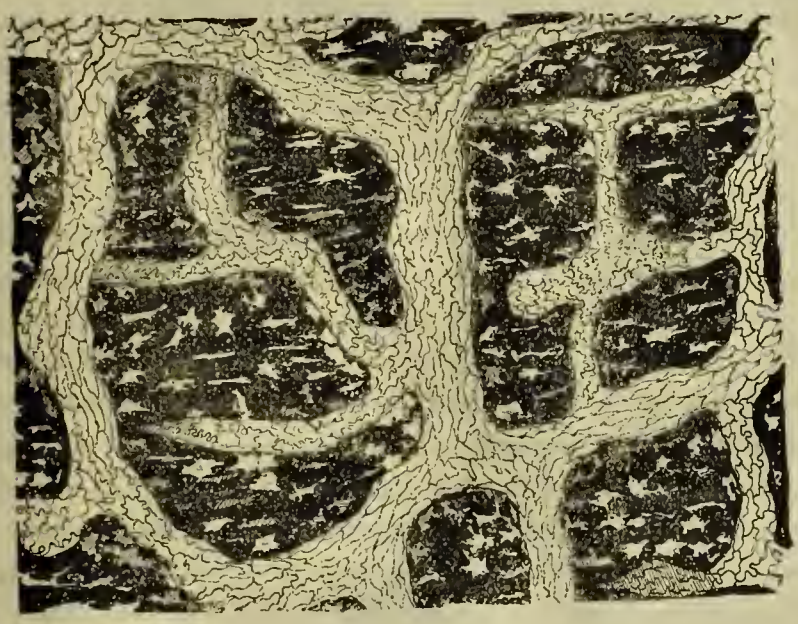

Fig. 496. — Red linfática de la cara superior del centro frénico del conejo. — Impregnación con el nitrato de plata, previo pincelamiento del endotelio pleural. El fondo negro fórmanlo los haces conectivos, y en él resaltan multitud de células estelares del tejido conjuntivo subepitelial.

No todos los tejidos poseen capilares linfáticos; los más ricos en éstos son los tejidos muscular, glandular y conectivo, y singularmente el que constituye el dermis de todas las mucosas y serosas. Es dudosa la existencia de linfáticos en los tejidos óseo, nervioso y fibro-cartilaginoso; con mayor razón faltarán en los epitelios y tejido cartilaginoso hialino que carecen de vasos sanguíneos. Las membranas fibrosas, tales como el periostio, aponeurosis y pericondrio los contienen, aunque en pequeña cantidad.

Las citadas redes constituyen el origen verdadero de los vasos linfáticos, no existiendo las comunicaciones directas con las serosas, lagunas conectivas, espacios perivasculares del sistema nervioso, etc., que ciertos autores han descrito, dando por seguro que el sistema linfático es la continuación de las grandes cavidades esplácnicas é intersticiales. Dichas redes de origen alójanse entre los elementos histológicos, y desaguan, tras curso más ó menos largo, en vasos linfáticos más gruesos, también anastomosados, caracterizados por las válvulas que presentan en su curso y por su aspecto moniliforme. En fin, de la reunión de estos vasitos nacen los tallos más robustos que acompañan á las arterias y venas. La estructura de los capilares linfáticos es idéntica á la de los sanguíneos: constan también de una membrana endotelial delgada y sumamente dilatable; el contorno de las células que la forman es notablemente flexuoso, como dentellado, carácter que las distingue de las endoteliales sanguíneas (fig. 496). Algunos autores suponen que estos dentellones sólo se ven en las células epiteliales retraídas, ó en otros términos, en los capilares vacíos (Klein y, recientemente, Muscatello).

Desarrollo de los capilares.—Cuando se observan al microscopio las expansiones membranosas de la cola de renacuajo ó el epiplón mayor de un conejo ó gato recién nacidos, se advierten, al lado de redes capilares completas, otras que se hallan en vías de formación. El nuevo capilar nace siempre de uno preexistente y se inicia bajo la forma de una expansión protoplasmática sólida, nacida, en ángulo casi recto, del plano de un corpúsculo endotelial (fig. 497, A). Esta expansión, que se parece á una espina en sus comienzos, crece rápidamente hasta juntarse con alguna de las llegadas en dirección opuesta; fórmase así un cordón intervascular, primero sólido, pero que no tarda en ahuecarse á impulsos de la corriente sanguínea que bate insistentemente sus extremos.

Todas las fases de este curioso proceso se pueden observar en una misma preparación: así, se ven á menudo cordones canalizados á medias, es decir, tabicados aún por un tapón protoplasmático que tiembla á impulsos de la corriente (fig. 497, B) y numerosas puntas más ó menos macizas (A, C), algunas de las

que (D), por consecuencia de la blandura de la pared, dejan escapar algunos leucocitos y hematíes. Terminada la canalización, se individualiza el protoplasma, segmentándose en territorios endoteliales, cada uno de ellos correspondiente á un núcleo del cordón. El crecimiento de los vasos se verifica por escisión de

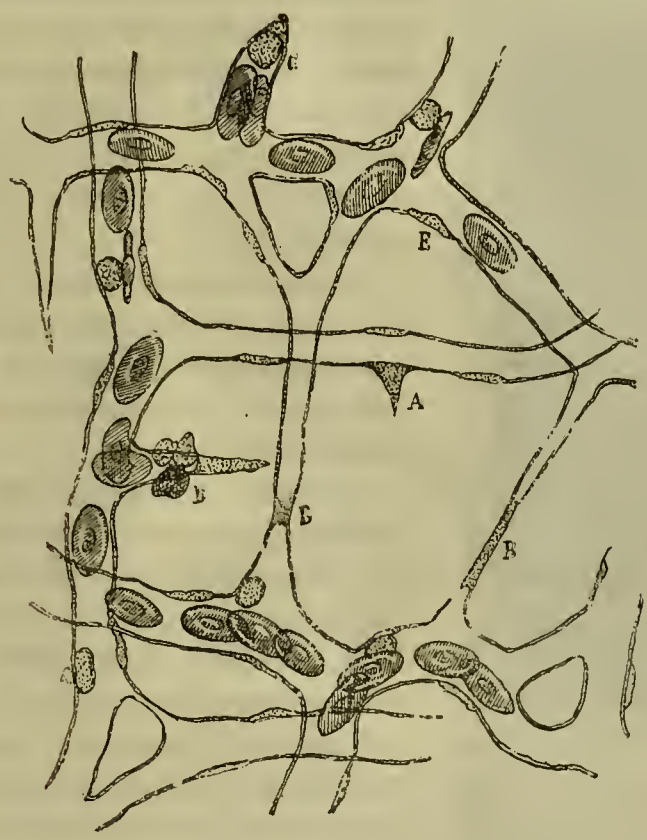

Fig. 497. — Capilares sanguíneos en vías de crecimiento de las expansiones membranosas de la cola del renacuajo. Examen en vivo.—A, punta de crecimiento; B, puentes protoplásmicos sin ahuecar; D, punta de crecimiento por donde se extravasa un hematíe y dos leucocitos.

las células preexistentes. En el mesenterio y epiplón del gato, es muy frecuente ver carioquinesis, tanto en los núcleos de los capilares en formación, como en los completamente terminados.

Tejido de las arterias. — La pared arterial exhibe una composición algo variable, según el calibre y situación del vaso. En general, pueden admitirse en ella tres túnicas: una *externa*, conectiva ó adventicia y eminentemente extensible; otra *media*,

musculo-elástica, friable y más ó menos contráctil; y otra *interna,* elástico-endotelial, lisa, delgada, que limita la corriente sanguínea. La túnica media es la que presenta más variaciones, tanto en espesor como en estructura, según el calibre del vaso. En las pequeñas arterias, consta especialmente de fibras musculares lisas, mientras que en las gruesas se compone casi exclusivamente de tejido elástico; de aquí la conveniencia de distinguir dos tipos de tejido arterial: *arterias pequeñas* ó musculares, *arterias gruesas* ó elásticas.

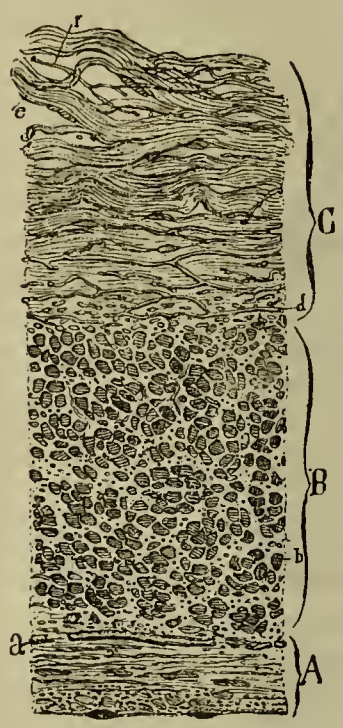

Fig. 498. — Corte longitudinal de la arteria facial. — A, capa interna; B, capa media; C, capa externa; *a,* membrana elástica perforada; *b,* corte de una fibro-célula muscular; *d,* fibras elásticas de la capa externa; *e,* fascículos conectivos de la capa externa.

Arterias musculares. — Corresponden á este tipo todas las arterias cuyo calibre no excede del de la radial (pedia, radio-palmar, facial, hepática, etc.).

La *túnica externa* consta de fascículos conjuntivos orientados en todas direcciones, pero principalmente en la perpendicular al eje del vaso. Los fascículos están separados por células conectivas aplanadas y por numerosas redes elásticas, que se concentran particularmente en la parte más interna de la adventicia. Las fibras elásticas se orientan en gran parte transversalmente al eje vascular, por lo que aparece en los cortes transversales bajo la forma de un punteado brillante (fig. 498, *d*). En algunas arterias (dorsal del pene, esplénica, mesentérica, renal, uterina, etc.), ofrece también la túnica externa algunas fibras musculares lisas, longitudinalmente dispuestas.

La *túnica media* está construída por un cemento homogéneo ó ligeramente estriado, en cuyo seno hállanse englobadas algunas redes elásticas finas, y, sobre todo, un considerable número

de fibras musculares lisas transversalmente orientadas. Los cortes longitudinales presentan estas fibras seccionadas de través, bajo la forma de campos poligonales ó redondeados de extensión desigual é irregularmente agrupados. Los más extensos de estos campos (que corresponden á la porción gruesa ó ecuatorial de las células musculares) exhiben núcleos (véase la fig. 498, *b*).

La *túnica interna* ofrece de dentro á fuera: el endotelio formado de elementos laminares ligeramente abultados al nivel del núcleo; una substancia fundamental vagamente estriada á lo largo y cruzada por algunas fibras elásticas delicadas; y una membrana elástica gruesa, perforada *(membrana fenestrada)* que sirve de valla separatoria entre las túnicas media é interna. Esta membrana elástica, que tiene gran tendencia á plegarse longitudinalmente, aparece fuertemente ondulada en los cortes transversales.

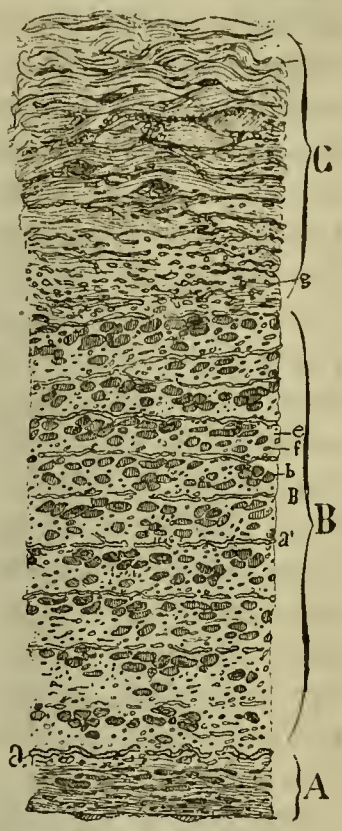

Fig. 499. — Corte longitudinal de la arteria subclavia. — A, capa interna; B, media, y C, externa; *a*, membrana elástica más interna; *a'*, membranas elásticas más delgadas de la capa media; *b*, fibra muscular cortada de través; *e*, materia amorfa; *f*, sección de una fibra elástica; *g*, fibras elásticas de la capa externa.

Arterias elásticas. — A este tipo corresponden todas las gruesas desde el calibre de la humeral en adelante.

La *adventicia* se presenta en estas arterias rica en tejido conjuntivo y fibras elásticas. Entre los haces más externos, alójanse á menudo células adiposas y vense acá y acullá algunos capilares sanguíneos *(vasa vasorum)*. Las fibras elásticas se reunen, á veces, en tan gran número junto á la túnica media, que casi se justifica su individualización en una nueva capa *(elástica* de Henle).

La *túnica media* es notablemente espesa, constituyendo en

gran parte la pared vascular. En ella se advierte, á más de la materia amorfa ya mencionada, y las redes elásticas entremezcladas de escasas fibras musculares transversales, multitud de membranas elásticas fenestradas, gruesas, dispuestas concéntricamente, pero á cierta distancia, limitando espacios anulares rellenados por los otros elementos (fig. 499, *a)*. Cuanto mayor es el calibre de la arteria más abundan las membranas y las fibras elásticas y menos los elementos contráctiles. Según Bardeleben, á más de las fibras musculares transversales, hallaríase también en el límite interno de esta túnica un estrato longitudinal de las mismas.

La *túnica interna* ofrece espesor mucho mayor que en las pequeñas arterias y comprende de dentro á afuera: primeramente el endotelio; más hacia afuera, una zona espesa, finamente estriada á lo largo, con todos los caracteres de los fascículos conjuntivos; en ella yacen sumergidas células estrelladas, análogas á las corneales, provistas de un núcleo alargado ú ovoideo *(capa sub-epitelial, porción estriada* de la *interna* de Kölliker); más hacia afuera adviértense numerosas fibras elásticas finísimas y dispuestas en redes de mallas longitudinales, y por último, en contacto con la túnica media hállase la membrana elástica fenestrada, que se distingue de las de aquélla por su mayor robustez y por sus plegaduras longitudinales (fig. 499, *a)*.

Estructura de las venas. — Consta también la pared de estos vasos de tres túnicas, cuya disposición, á diferencia de la de las arterias, varía poco con los distintos calibres. En cambio, puede afirmarse que cada vena, por razón de su posición y de las particulares funciones que desempeña, presenta una estructura particular.

En general, cabe afirmar que la *túnica adventicia* es la más gruesa é importante, componiéndose de fascículos conectivos, redes elásticas y algunas fibras musculares longitudinales; que la *media* consta de substancia amorfa cruzada por redes elásticas y escasas fibras musculares transversales, y que la *interna* resulta de la asociación de un endotelio de células alargadas, con una materia estriada á lo largo y algunas redes elásticas delicadas.

Ganglios linfáticos. — Son órganos globulosos ú ovoideos, de consistencia parenquimatosa, situados en el trayecto de los vasos linfáticos gruesos, y especialmente constituídos de tejido citógeno ó adenoideo.

Cuando se examina al microscopio un corte ganglionar previamente descargado, á beneficio del pincel, de los leucocitos que llenan sus espacios cavernosos, se nota que toda la trama ganglionar se reduce á dos partes: el *estroma conjuntivo* y las *formaciones citógenas*.

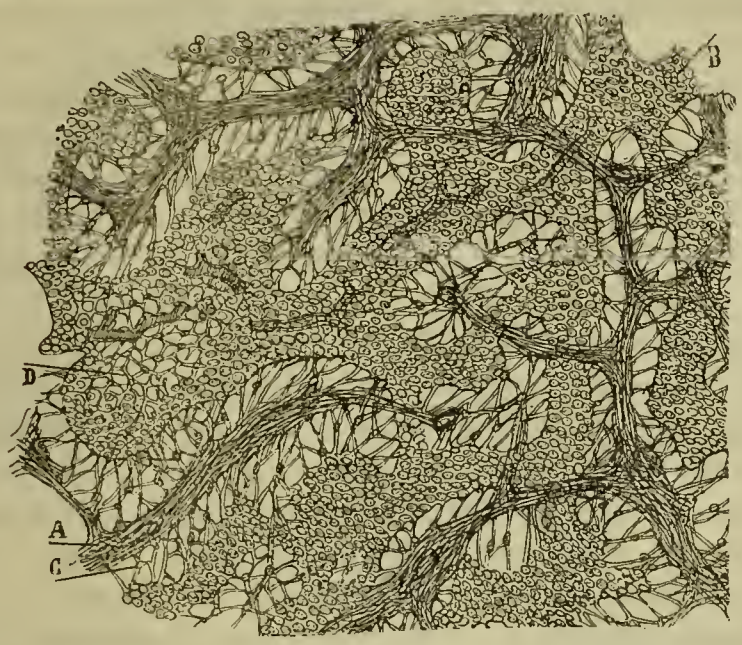

Fig. 500. — Corte, tratado por el pincel, de la región medular de un ganglio de carnero. — A, tabique conjuntivo ó del estroma; B, cordón medular anastomosado en red; C, fibras conectivas del sistema de suspensión; D, red filamentosa de un cordón medular en que el pincel arrastró casi todos los elementos englobados en ella.

Estroma.—Imagínese una cápsula conjuntiva rodeando completamente el ganglio, de la cual parten interiormente trabéculas fasciculadas, ya acintadas, ya cilíndricas, divididas y subdivididas repetidas veces para separar un sistema de cavidades irregulares ampliamente comunicantes entre sí. Semejantes trabéculas, que están construídas de fascículos y células iguales á las del tejido conectivo laxo, son más gruesas y hállanse más distantes unas de otras en la región cortical del ganglio, donde

alojan las prolongaciones más voluminosas del tejido citógeno (folículos linfáticos). A menudo está el estroma reforzado por fibras musculares lisas, y siempre encierra fibras elásticas y arterias y venas voluminosas (fig. 500, A).

Substancia adenoidea. — La formación citógena ó adenoidea yace en las cavidades del estroma, constituyendo un sistema de cordones irregulares, macizos y anastomosados entre sí, los cuales, después de llenar casi todo el espesor del ganglio, se terminan en la zona cortical por gruesas dilataciones libres, de forma globulosa ó piriforme. A las expansiones citógenas anastomosadas del centro ganglionar se las conoce con el nombre de *cordones medulares;* y con el de *folículos linfáticos,* ó el de nódulos corticales, á las porciones libres ensanchadas de la misma substancia residentes en la zona cortical. El diámetro de los folículos oscila generalmente entre 0'5 y 1 milímetro, y el de los cordones medulares entre 0'02 y 0'1. Existen, por lo demás, grandes variantes de dimensión en los diversos animales.

La trama de los folículos linfáticos, así como la de los cordones medulares, está formada, en todo su espesor, de tejido citógeno (véase la fig. 190), es decir, de una fina red conectiva cuyas mallas están rellenadas por corpúsculos redondeados. Contiene, además, numerosos capilares sanguíneos, cuyas paredes espesas, reforzadas por una túnica adventicia, reciben la inserción de los finos fascículos citógenos (fig. 191, D, B).

Espacios linfáticos. — Entre el estroma y las masas citógenas descritas, existen unos espacios cavernosos, continuos en todo el grosor del ganglio, en los cuales desaguan los linfáticos aferentes y toman origen los eferentes. La disposición de estas oquedades es tal, que á pesar de su complicada extensión, jamás las trabéculas del estroma tocan las formaciones adenoideas. A fin de conservar una situación siempre central en las lagunas del armazón, las partes citógenas hállanse sostenidas por delicadas trabéculas de tejido conjuntivo, las cuales, partiendo de la superficie de los folículos y de los cordones medulares, con cuya delicada red conectiva se continúan, vienen á insertarse y perderse en los haces conjuntivos del estroma. Este sistema de *suspensión,* unas veces está representado por fascículos rectos

insertos casi perpendicularmente en las superficies próximas del estroma y cordones citógenos, y otras por hacecillos ramificados, y aun anastomosados en red de flojas mallas (véase la fig. 500, C). Cada uno de estos finos fascículos, asi como todas las superficies limitantes de los espacios linfáticos, se hallan revestidos de un delicado endotelio, como se muestra claramente en los gan-

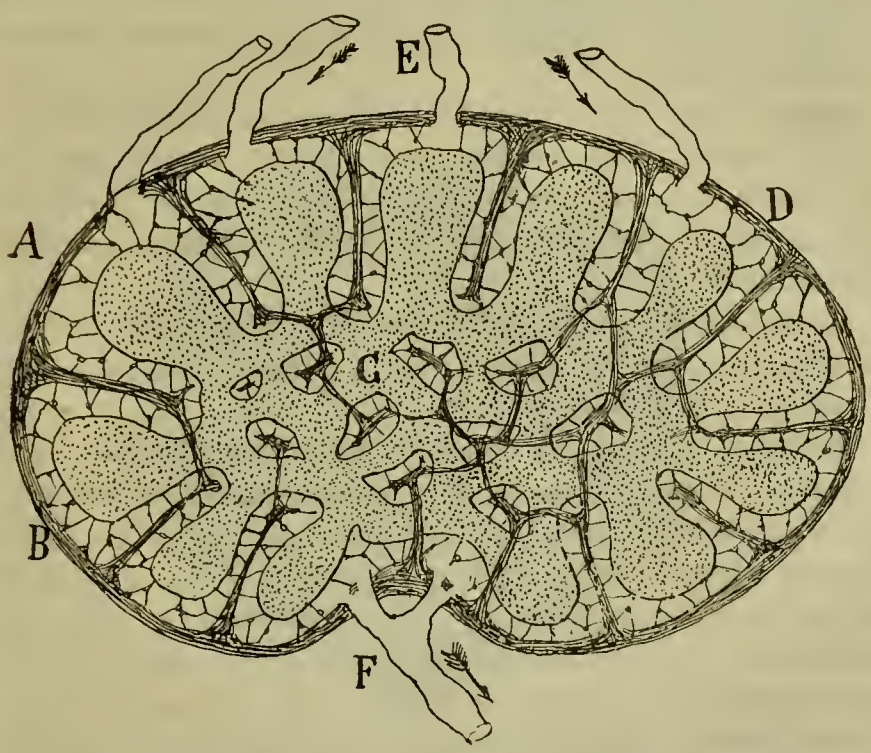

Fig. 501. — Esquema de la estructura del ganglio linfático y de las relaciones de éste con los vasos aferentes y eferentes. — A, cápsula y tabiques conectivos; B, folículos de tejido citógeno; E, vasos linfáticos aferentes; F, vaso linfático eferente; C, cordones linfáticos de la substancia medular.

glios linfáticos inyectados con nitrato de plata. Los núcleos que se advierten pegados á las trabéculas del *sistema de suspensión* en los cortes pincelados de ganglio, pertenecen á las células endoteliales que las revisten. Por lo demás, este endotelio es simple continuación del de los vasos linfáticos aferentes y eferentes, como los espacios que limitan representan también una verdadera dilatación cavernosa de la cavidad de los mismos.

El ganglio posee generalmente una disposición reniforme. Por

el lado de la convexidad penetran en número de dos á cuatro los vasos linfáticos aferentes; y por la depresión ó híleo ganglionar emergen los eferentes que son siempre menos numerosos. La corriente linfática se derrama primero en el sistema cavernoso perifolicular, arrastra á su paso muchos de los elementos citógenos que quizás atravesaron, merced á sus movimientos activos, el endotelio de los cordones adenoideos, y alcanzan, por fin, concentrándose, la región del híleo y la cavidad de los linfáticos eferentes (fig. 501, E, F).

Bazo. — Esta víscera consta también muy principalmente de tejido citógeno, sólo que sus trabéculas, en vez de estar, como en los ganglios, bañadas por la corriente linfática, lo son por la sanguínea. De aquí el nombre de *glándula linfatico-sanguínea* que le dió Frey.

En el bazo hay que estudiar cuatro partes principales: el *estroma conectivo,* las *formaciones citógenas,* los *espacios cavernosos* y la *pulpa esplénica.*

Estroma. — Está representado, en primer término, por una cubierta de tejido conectivo laxo, entremezclado de fibras elásticas y reforzado por elementos musculares lisos, la cual, después de aforrar todo el órgano, se continúa al nivel del híleo con las túnicas adventicias de los vasos esplénicos. De la superficie interna de la cápsula parten trabéculas conectivas que se ramifican y anastomosan entre sí, limitando un sistema de cavidades comunicantes, donde se alojan los elementos de la pulpa ó barro esplénico. Estas trabéculas insértanse también en la cubierta conectiva gruesa que poseen los vasos sanguíneos, particularmente los venosos. Al igual de la cubierta general esplénica, encierran también tales tabiques fibras conectivas, musculares y elásticas.

Formaciones citógenas. — Las mallas que resultan entre los tabiques conectivos del estroma están divididas en otras mucho más menudas y numerosas, pero no ya por fasciculos conjuntivos ordinarios, sino por cordones citógenos, en un todo comparables á los adenoides de la región medular de los ganglios linfáticos. Cada cordón de éstos consta, pues, de un armazón de finísimos haces conectivos dispuestos en red cerrada y de nume-

rosos corpúsculos alojados en sus mallas. De trecho en trecho, vénse también en medio de estas redes citógenas cuerpos globulosos, de un tamaño variable entre 2 y 6 décimas de milímetro, que se conocen con el nombre de *corpúsculos* de Malpigio. Tales cuerpos, que pueden compararse en un todo con los folículos linfáticos, están construídos también de tejido citógeno. Cada uno de ellos es atravesado por una arteria que les provee de capilares, y por su circunferencia se continúan con los cordones adenoides de la pulpa (fig. 502).

Fig. 502. — Corte de un corpúsculo de Malpigio del bazo del conejo. Inyección vascular por el carmín.

Participan igualmente de la textura adenoide las túnicas vasculares. Las ramas de la arteria esplénica se cubren, como ya hemos dicho, desde el momento en que ingresan en el parénquima, de una cubierta conjuntiva densa: al principio, este revestimiento ofrece los caracteres del tejido conectivo laxo, pero pronto cambia de aspecto; sus trabéculas se adelgazan, y las lagunas interpuestas se llenan paulatinamente de corpúsculos linfáticos. Cuando las ramitas arteriales alcanzan un diámetro menor de una décima de milímetro, la túnica adventicia está completamente transformada en tejido citógeno, transformación que

alcanza en parte á la túnica media. De la superficie de semejante cubierta adenoidea surgen, de trecho en trecho, gruesas elevaciones, que no son otra cosa que los citados corpúsculos de Malpigio, y multitud de expansiones citógenas continuadas con los cordones anastomosados de la pulpa.

Sobre las paredes venosas se deposita asimismo el tejido adenoideo: las gruesas venas yacen en vaina común con las arterias; pero pronto, cuando aquéllas se ramifican, apártanse de éstas, adquiriendo cubierta adenoide propia que no dura mucho, pues á poco espacio se resuelve en multitud de trabéculas adenoides continuadas con los cordones pulposos de toda la trama citógena del bazo.

En resumen, las formaciones citógenas del bazo son: los corpúsculos de Malpigio, las paredes venosas y arteriales transformadas, y los cordones anastomosados de las cavidades de la pulpa, partes todas unidas en sistema continuo y limitando espacios donde se aloja pulpa ó barro esplénico.

Espacios cavernosos. — Están representados por los huecos que median entre los cordones citógenos, las superficies del estroma conjuntivo, los corpúsculos de Malpigio y las túnicas vasculares. Estas lagunas hállanse en recíproca comunicación, y se continúan, de una parte, con la cavidad de las pequeñas arterias, y de otra con la de las últimas ramificaciones venosas. Un epitelio de células peliculares delicadísimas reviste todo este vasto sistema lacunario, donde circula la sangre mezclada con los elementos especiales de la pulpa.

Pulpa esplénica. — Cuando se exprime un pedazo de tejido cavernoso esplénico, queda en libertad un líquido espeso, rojizo, á que se ha dado el nombre de *barro esplénico*. Convenientemente diluído en fresco en el licor sodo-metílico, ofrece este barro multitud de elementos, entre los que figuran como formas principales: 1.ª Gran número de hematíes ordinarios. 2.ª Multitud de esférulas hialinas, teñidas unas por la hemoglobina, absolutamente incoloras otras, que parecen desechos de hematíes. 3.ª Células esferoidales, de 4 á 6 μ de diámetro, formadas casi exclusivamente del núcleo, pues apenas si en torno de ellas se descubre vestigio de protoplasma; tales elementos son acaso los

más numerosos de la pulpa esplénica. 4.ª Células gruesas, esféricas, de contorno limpio, provistas de un núcleo globuloso y robusto y de un protoplasma casi homogéneo y tingible en violeta por el violado de metilo; á menudo se muestran en carioquinesis. Por la hialinidad de su protoplasma, así como por su perfecta redondez, son estas células comparables con las hialinas y semihialinas de la médula ósea y tejido citógeno (*eritroblastos*). 5.ª Corpúsculos rojos de Neuman, es decir, células rojas nucleadas, enteramente iguales á las de la médula ósea. 6.ª Leucocitos de varias formas y tamaños, ricos en granulaciones brillantes colorables por las anilinas; algunos de los más voluminosos contienen trozos de glóbulos rojos y aun hematíes completos. 7.ª A veces se hallan en la pulpa esplénica células gigantes semejantes á las mieloplaxias.

Como acabamos de ver, todos estos elementos tienen gran semejanza con los de la médula ósea, y no parece aventurado suponer que en el bazo, como en esta última, se engendran glóbulos rojos y quizás los mismos leucocitos. Pero al lado de esta actividad creadora hay que admitir una función de destrucción y desintegración de los hematíes. Pruébanlo la gran cantidad de pedazos hemoglóbicos que pululan por el barro esplénico y la existencia constante de leucocitos portadores de desechos globulares.

CAPÍTULO XXXII

TEJIDO PILOSO Y UNGUEAL

Definición. — El tejido piloso es una trama dura, elástica, asociación del tejido epidérmico y conjuntivo, y modelada en unos órganos filamentosos, flotantes en la atmósfera por su cuerpo y extremidad periférica, é implantados por su raíz en un hueco ó bolsa de la piel.

Caracteres físicos y macroscópicos. — El pelo cubre casi toda la superficie cutánea, sufriendo variaciones de color, cantidad y longitud, según la región, el sexo y la raza. Su forma es, en general, cilíndrica; en el pelo rizado es acintada. Por su longitud y espesor, se distinguen las variedades siguientes: 1.ª, el cabello ó pelo largo, cuya longitud oscila entre 5 centímetros y 1 metro, y que reside en la cara y cuero cabelludo; 2.ª, el pelo corto, cuya longitud no suele pasar de 3 ó 4 centímetros, y habita en la axila, órganos genitales, región esternal, etc.; 3.ª, el *lanugo* ó vello, cuya longitud varía entre 2 á 12 milímetros y reside en las mejillas, manos, brazos, etc.; 4.ª, el pestañoso ó cerdoso, representado por pelos rígidos, espesos, cortos, que bordean los párpados, forman las cejas y protegen las aberturas del oído externo y nariz.

Consta el pelo de *raíz* ó *bulbo, tallo y extremo periférico.* El tallo posee una forma uniformemente cilíndrica; el cabo periférico está á menudo deshilachado ó hendido: y la raíz, que reside en un hoyo del epidermis, se engruesa por su extremo inferior, que está provisto de una foseta destinada á recibir la papila.

Caracteres micrográficos. — El tejido del pelo comprende dos partes principales: el pelo propiamente dicho, y el folículo ó bolsa epidérmico-conectiva que lo contiene.

Folículo piloso. — Representa una bolsa formada de los mismos componentes que la piel: el *epidermis córneo,* el *cuerpo de Malpigio* y el *dermis*. De todos estos factores, sólo el epidermis córneo se continúa realmente con la raíz del pelo. Es forzoso, pues, pasar revista á estas tres formaciones cutáneas del folículo que, de fuera á adentro, son: la *capa conjuntiva,* la *vaina externa de la raíz* ó cuerpo de Malpigio, y la *vaina interna de la raíz* ó epitelio córneo.

a) *Vaina conjuntiva.*—El tejido conectivo del dermis se prolonga alrededor del folículo piloso, constituyendo una membrana fibrosa densa, bien separada hacia afuera del tejido conectivo laxo ó subcutáneo. Un corte fino de esta membrana permite reconocer tres estratos: el fibroso externo, el fibroso medio y la capa vítrea ó basal.

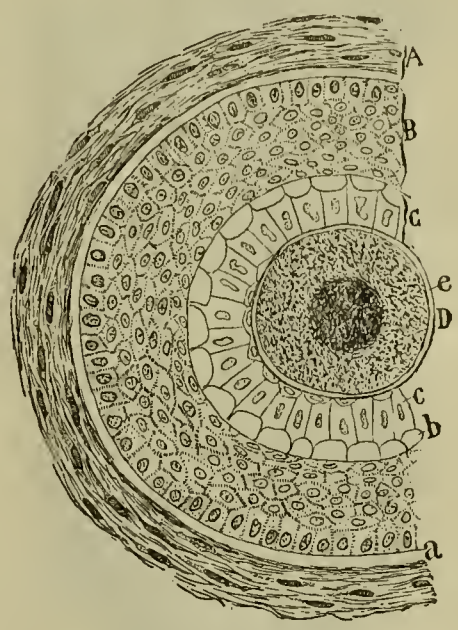

Fig. 503. — A, vaina conectiva del folículo piloso; B, vaina externa de la raíz; C, vaina interna de la misma; D, pelo; *a,* membrana vítrea ó basal; *b,* vaina de Henle; *c,* vaina de Huxley.

El *estrato externo* es delgado, y consta de hacecillos conectivos, dispuestos en redes generalmente transversales, y cuyas lagunas contienen células conjuntivas fijas, estrelladas y en un todo semejantes por sus expansiones y anastomosis á los corpúsculos de la córnea. Entre los haces, y particularmente en el límite externo del estrato, se advierten muchas fibras elásticas.

El *estrato interno* es más espeso y denso que el externo; sus haces poco aparentes se asocian en membranas cilíndricas apretadas; las células, de núcleos alargados transversalmente, han sido por algunos consideradas como musculares (Bonnet); en realidad, son elementos conectivos, aplastados y dotados de expansiones coloreables por el cloruro de oro (fig. 503, A).

La *membrana vítrea* ó basal es una capa brillante, homogénea, de 2 á 3 μ de espesor, que separa limpiamente la vaina conjuntiva de la formación epitelial del folículo; el carmín la tiñe de un rosa pálido y resiste á los ácidos y álcalis. Por arriba, la membrana vítrea se confunde con el dermis más superficial; hacia abajo, se adelgaza acabando al nivel del remate de la vaina externa de la raíz. Es probable que dicha capa vítrea represente un producto secretorio del cuerpo de Malpigio ó vaina externa epitelial del folículo (fig. 504, *b*).

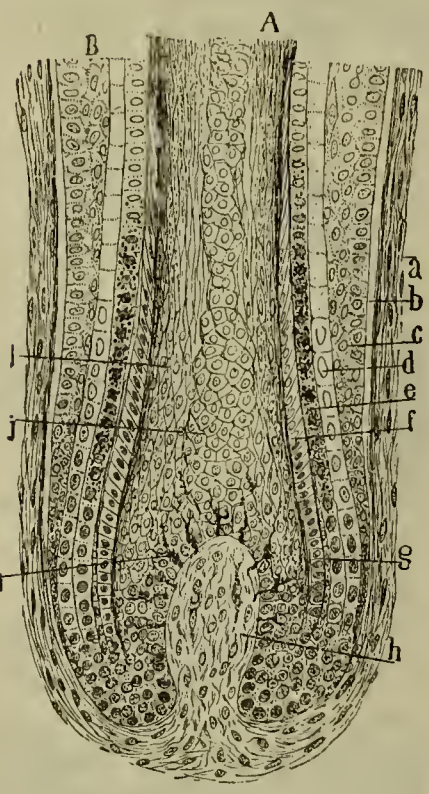

Fig. 504. — Corte longitudinal del folículo piloso. — A, pelo; B, folículo piloso; *a*, vaina conjuntiva; *b*, capa vítrea; *c*, vaina externa de la raíz; *d*, capa de Henle; *e*, capa de Huxley; *f*, cutícula del pelo; *g*, cutícula de la vaina; *h*, papila del pelo; *i*, células pigmentarias de la raíz; *j*, región medular de la raíz; *l*, región cortical de la misma.

b) *Vaina externa de la raíz.*—Con este nombre se designa una prolongación folicular del cuerpo de Malpigio ó porción viva del epidermis, la cual se adelgaza de arriba abajo, hasta terminar libremente enfrente de la papila (fig. 504, *c*). Consta de varios estratos de células granulosas, provistas de núcleo y unidas entre sí por hilos comunicantes. El estrato más externo presenta corpúsculos alargados comparables á los de la capa germinal de la piel; los estratos medios exhiben elementos poliédricos, y el interno células aplanadas, pero sin granos de eleidina. En el cabo inferior de la vaina externa, las hileras celulares se reducen á dos y luego á una, en la cual se observan signos inequívocos de atrofia.

c) *Vaina interna de la raíz* (fig. 503, C). — Es una formación epitelial diáfana, incolorable por el carmín, ávida del ácido pí-

crico y continuada con la zona córnea del epitelio cutáneo.

No tapiza esta vaina toda la raíz del pelo, sino exclusivamente su parte media é inferior; hacia arriba, sus elementos se disgregan, dejando en torno del pelo un espacio vaginal, donde se vierte la secreción sebácea; por abajo se confunde con las células más inferiores y periféricas de la raíz del pelo.

Esta cubierta epitelial consta de tres zonas: la de Henle, la de Huxley y la cutícula de la vaina. Estas zonas, confundidas en lo alto bajo un aspecto casi homogéneo, resultan bien deslindadas en la porción media é inferior del folículo piloso.

Capa de Henle.— Es una membrana homogénea, de 6 á 8 μ de espesor, situada inmediatamente por debajo de la vaina externa del folículo. Por abajo, esta capa posee células cuboideas, granulosas, provistas de núcleo; pero á medida que éstas ocupan planos más superficiales, pierden el núcleo, se alargan en sentido longitudinal y adquieren un aspecto homogéneo y brillante. Esta nueva apariencia se debe á su transformación en queratina. Vistas de plano tales células, muestran, á veces, unos resquicios ó junturas, por las cuales se insinúan algunos apéndices de los corpúsculos de la zona de Huxley (fig. 504, *d*).

Capa de Huxley (fig. 504, *c*). — Es concéntrica á la anterior y más espesa, constando alguna vez de dos hileras celulares. El aspecto de las células de esta capa varía con la altura que ocupan; cerca del bulbo piloso se diseñan bajo la forma de unos corpúsculos cuboideos, granulosos y obscuros, los cuales, á medida que ocupan planos más superficiales, se cargan de tal cantidad de esferas de eleidina, que es casi imposible discernir el núcleo y protoplasma; más arriba aún, las células se alargan divergiendo hacia la raíz, pierden la eleidina, se queratiniza el protoplasma, y el conjunto de la vaina toma la apariencia de la capa de Henle. Una diferencia la separa, no obstante, de esta zona: la persistencia de los núcleos, los cuales pueden descubrirse hasta en el tramo superior de la vaina de Huxley, bajo la forma de vesículas pálidas, encogidas ó incolorables por el carmín.

Cutícula de la vaina.—Cuando se examina la raíz de un pelo seccionada á lo largo, se advierte una banda estrecha y brillante

entre el epidermis del pelo y las células de Huxley. Esta capa, queratinizada en casi toda su extensión y difícil de resolver en sus células componentes, es la *cutícula de la vaina*. En el bulbo piloso está representada por una fila de elementos cúbicos, enanos, de 5 μ de largos por 3 de gruesos. Su núcleo es pequeño, elipsoideo y fuertemente colorable por los reactivos de la cromatina. Dichas células se queratinizan á nivel más inferior que las de Huxley, transformándose en escamas imbricadas. La cutícula alcanza aquí un espesor de 2 á 2 $^1/_2$ μ (fig. 504, *g*).

Tanto la vaina de Henle como las de Huxley y cutícula, se continúan inferiormente con las células indiferentes ó embrionarias de la raíz del pelo. Esta parte del bulbo, que podríamos llamar región germinal, consta de pequeñísimos elementos poliédricos, sumamente juntos, pobres en protoplasma y provistos de núcleo casi siempre en vía de mitosis. Las zonas periféricas de este foco germinal proliferan incesantemente, produciendo corpúsculos que, empujados sucesivamente hacia arriba y diferenciándose progresivamente, engendran las vainas de Huxley, de Henle y cútícula. En cuanto á la porción interna de la región germinal ó indiferente, tiene á su cargo, como luego veremos, la formación y crecimiento de la raíz del pelo.

Tejido del pelo. — Trataremos del bulbo piloso y luego del tallo, pues la estructura varía notablemente en estas dos partes.

1.° *Bulbo.* — Es el ensanchamiento ovoideo en que termina la raíz por su extremo profundo. En los pelos gruesos y adultos, esta dilatación ofrece en su parte inferior una fosa cónica, semejante al fondo de una botella, donde se insinúa la papila, excrecencia conjuntivo-vascular de la túnica fibrosa del folículo. En los pelos atróficos y en la mayor parte de los delgados, el bulbo carece de depresión terminal, y por consiguiente, no hay papila.

Las células del bulbo piloso son pequeñas, poliédricas, y poseen un núcleo esférico, que llena casi todo el cuerpo celular. Los corpúsculos que contornean la papila difieren de los otros por su forma primitiva y por cierta orientación convergente (figura 504, *i*).

Cuando se observan atentamente cortes longitudinales de bulbo de cabellos negros ó castaños, se advierte que entre los

elementos de la hilera epitelial inferior ó limitante, yacen unas células obscuras, fusiformes ó estrelladas, con todas las apariencias de corpúsculos conjuntivos melánicos. Por sus expansiones periféricas, que son delgadas y á veces ramificadas, se insinúan entre los elementos del bulbo, y por su cuerpo ó gruesa extremidad tocan la superficie papilar. Semejantes elementos, conforme han demostrado las observaciones de Riehl, Aeby, Kölliker y las nuestras, son células conectivas emigrantes, elaboradoras de melanina, las cuales vienen del tejido conectivo inmediato, penetran en el bulbo, y cogidas y arrastradas por las células epiteliales pilosas, se fragmentan y desecan en la región cortical del pelo. A estos desechos melánicos, difundidos irregularmente por el tallo piloso, se debe el color del cabello, color que varía desde el blanco al negro, pasando por el rojo, el rubio y castaño, según el número de células conectivas melánicas que penetraron en el bulbo, y en razón de la cantidad de melanina elaborada por éstas (1).

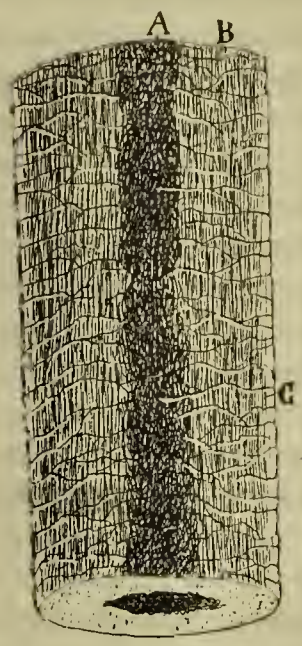

Fig. 505.— Trozo de un pelo examinado por su superficie. — A, región medular; B, región central; C, células imbricadas del epidermis del pelo.

2.° *Tallo piloso.* — Consta de tres capas epiteliales concéntricas, á saber: la cutícula ó epidermis del pelo, la capa cortical y la capa medular.

(1) En Junio de 1886, fecha en que publicamos el tercer cuaderno de nuestro *Manual de Histología,* cuaderno en qué se contenía el tejido piloso y sanguíneo, creímos haber sido los primeros en descubrir el origen conectivo de las células melánicas del bulbo piloso. Estábamos equivocados, pues informes posteriores nos enseñaron que semejante interpretación había sido ya dada por Riehl en 1884 (*Vierteljahrschr f. Dermatol. u. Syph.,* 1884), y por Aeby en 1885 (*Med. Centralbl.,* núm. 16). El trabajo de Kölliker fué muy posterior al nuestro (1887). De todos modos, esta coincidencia en las conclusiones de trabajos hechos independientemente, fortalece considerablemente la verosimilitud de la doctrina que acabamos de exponer.

Cutícula. — Cuando se examina un pelo á lo largo, se nota que está recubierto de unas células anchas, delgadísimas, más ó menos cuadriláteras é imbricadas, de modo que el borde inferior de las de arriba es subyacente al superior de las de abajo. El aspecto de estas líneas de imbricamiento, recuerda en un todo el dibujo del tallo de una palmera (fig. 505, C).

Hacia abajo, en la región del bulbo, la cutícula consta de células gruesas, cuboideas, continuadas con la región germinal ó porción indiferente de la raíz. Estas células son al principio horizontales, pero no tardan en aplanarse é imbricarse por consecuencia de la posición cada vez más oblicua que, con relación al eje del pelo, van tomando. Hasta cerca de la mitad de la raíz, conservan el núcleo; luego desaparece éste, se queratiniza el protoplasma y la célula se transforma en finísima escama transparente (fig. 504, *f*).

Capa cortical del pelo. — Procede de la porción periférica de la región germinal ó indiferente del bulbo piloso. Las células, al principio poliédricas y pequeñas, se alargan longitudinalmente y ostentan núcleos muy visibles; á medida que alcanzan planos más superficiales, el núcleo palidece y el protoplasma toma un aspecto filamentoso; finalmente, los hilos de queratina del cuerpo celular se disponen longitudinalmente, pasan de una célula á otra, y borran casi, con su aspecto brillante, la presencia del cemento intercelular (fig. 504, *l*).

Cuando estos corpúsculos corticales abordan la región del tallo, sufren una retracción que los convierte en prismas filamentosos sumamente delgados, pierden el núcleo, y el cemento de unión se presenta longitudinalmente surcado por series de granos melánicos y de burbujas de aire (fig. 505, B).

Médula del pelo.— De las células del bulbo que cubren el vértice de la papila proceden los elementos medulares. Distínguense de los corticales por su dirección, que es transversal, por su forma poliédrica más corta, por su núcleo elíptico dirigido de través, al revés del de las células corticales que yace á lo largo del pelo, por no contener materia melánica intercelular, y, sobre todo, porque el protoplasma que tales elementos contiene, aunque finamente reticulado, no se transforma en hebras gruesas,

brillantes y longitudinales. No es raro ver estas células asociadas en grupos ó familias superpuestas, separadas á favor de una prolongación transversal de materia cortical. Es de notar que, tanto el núcleo como el aspecto granuloso del protoplasma, se conservan hasta mayor altura que en los elementos corticales; no obstante, hacia la mitad de la raíz, las células se achican, el núcleo se atrofia y el protoplasma se coarruga y queratiniza (fig. 504, *j*).

A veces, la substancia medular termina por una especie de fondo de saco dentro de la raíz, por manera que el resto del tallo piloso es sólido y homogéneo: esta es la regla general en el vello y en casi todos los cabellos jóvenes, cualquiera que sea su color. En los pelos gruesos y viejos, la materia medular se carga de pequeñísimas burbujas de aire, que pueden invadir toda la porción central del tallo, produciendo la impresión de un cilindro lleno de granulaciones melánicas. Entre estas pequeñísimas burbujas no puede reconocerse el menor vestigio de las células medulares.

Propiedades fisiológicas del tejido piloso. — Esos órganos carecen de propiedades vitales en su tallo, pero no así en el bulbo, encima de la papila, cuyos elementos blandos y protoplasmáticos son asiento de activa proliferación. Nútrense estas células por inhibición de los plasmas de la papila, y así se observa que cuando ésta falta ó se atrofia, el pelo cesa de crecer.

No se conocen nervios en el bulbo piloso, aunque es probable que existan como en el epidermis cutáneo y en el corneal.

El crecimiento del pelo se verifica desde la papila hacia la superficie cutánea. En este movimiento, sólo el bulbo y la vaina interna de la raíz toman participación; la externa, continuación de la capa malpigiana del epidermis, permanece indiferente, sirviendo como lecho ó canal de deslizamiento de la raíz del pelo.

Propiedades químicas. — Excepción hecha de las células del bulbo y las de la vaina externa de la raíz, los elementos pilosos están casi exclusivamente formados de queratina; por lo cual sus propiedades químicas son las de esta materia.

Cuando el pelo se macera por algún tiempo en ácido sulfúrico, la materia cortical se hincha y descompone en sus células constitutivas. Se desprenden primero las escamas de la cutícula

pilosa, bajo la forma de láminas delgadísimas y cuadrilongas, y se desintegran después en largos filamentos prismáticos las células de la región cortical. Esta descomposición se acelera en el ácido sulfúrico caliente. La potasa y la sosa hinchan las células pilosas, concluyendo por disolverlas.

La cantidad de las cenizas que la combustión del pelo proporciona, alcanza de 0'54 á 1'85 por 100. Hállanse en éstas el *sulfato* y *fosfato de cal, óxido de hierro* y *sílice*. El *azufre* entra por un 4 ó 5 por 100. La materia colorante del pelo es probablemente la melanina. Cierta cantidad de grasa impregna la totalidad del tallo, prestándole la flexibilidad y brillo que le son característicos. Por lo demás, esta materia dimana de las glándulas sebáceas, cuyo contenido se vierte en la entrada del folículo.

Desarrollo del tejido piloso. — Del tercero al cuarto mes, iníciase en el feto la formación de este tejido. Comienza en las cejas y cuero cabelludo por pequeños tubérculos ó grumos celulares, que surgen en la cara profunda del cuerpo de Malpigio de la piel. Estos grumos adquieren la configuración de apéndices piriformes, algo más anchos en su porción profunda que en su región superficial. En torno de ellos aparece un tejido mucoso construído á expensas del dermis, que será con el tiempo la capa conjuntiva del folículo. En la masa celular del apéndice piriforme se inicia una diferenciación en dos zonas: una periférica (vaina externa de la raíz) y otra central, de forma cónica con la punta dirigida hacia fuera, que no es otra cosa que el pelo embrionario y su raíz.

Este pelo rudimentario sufrirá á su vez una diversificación en dos capas: una clara y brillante, situada periféricamente y correspondiente á la vaina interna de la raíz; otra interna, más obscura, que será el pelo propiamente dicho. Al propio tiempo, y antes que el pelo brote, el tejido conectivo inmediato se vascular iza y en el bulbo piloso penetra una papila provista de capilares sanguíneos.

Regeneración del tejido piloso. — El pelo, una vez formado, tiene una duración limitada, y tarde ó temprano cae por desaparición de la papila y absorción de toda la parte profunda del bul-

bo y sus cubiertas. Cuando se practica un corte del cuero cabelludo del hombre adulto, encuéntranse siempre al lado de pelos robustos, cabellos atróficos á punto de desprenderse.

Estos cabellos carecen de bulbo, es decir, de germen epitelial piloso y yacen en una masa espesada, constituída por la vaina externa de la raíz ó cuerpo de Malpigio del pelo. Debajo del pelo atrófico, dicha vaina se prolonga y se termina en un abultamiento redondeado, que no tarda en ser deprimido en fondo de botella por una nueva papila dérmica. En el espesor de este cordón epitelial macizo y subpiloso es donde, á beneficio de diferenciaciones, se engendrará el nuevo folículo piloso, así como el pelo de regeneración, que brotará en cuanto el caduco se desprenda.

TEJIDO DE LAS UÑAS

Las uñas son órganos laminares, cuadrilongos, formados exclusivamente por el epidermis córneo de la piel engruesado y condensado de un modo especial. Alójase este tejido en un surco semicircular, más hondo por detrás que por los lados, ofrecido por el epidermis de la cara dorsal de los dedos.

Consta la uña de dos formaciones: la córnea ó superficial, y la *matriz* ó cuerpo de Malpigio.

La *formación corneal* consta de muchas capas de células aplastadas, transparentes y duras, que contienen un núcleo discoideo más ó menos atrofiado. Examinadas estas células en fresco, no dejan ver ningún detalle; pero si se las trata primero con la potasa ó la sosa, se hinchan y redondean como las células epidérmicas, revelando una membrana y vestigios de un núcleo. Nótanse al nivel de los bordes celulares ciertas asperezas y granulaciones que nos parecen vestigios de los filamentos de unión.

El *cuerpo malpigiano* de la uña presenta los caracteres del de la piel, con el que se continúa al nivel de los surcos laterales de aquélla, y de la extremidad del dedo. Únicamente es de notar que el epitelio interpapilar no forma, como en la piel, mamelones irregulares, sino crestas antero-posteriores, que se alojan en espacios interpapilares de la misma dirección. A consecuencia de esta disposición, los cortes antero-posteriores de la

uña muestran el epitelio unido en línea recta con el dermis, en tanto que las secciones transversales ofrecen la configuración en serreta propia de la piel. Las células son poliédricas y más pequeñas y granulosas cerca del dermis que en las capas superficiales. Los filamentos comunicantes son gruesos y sumamente numerosos, particularmente en la proximidad del epidermis córneo, donde, como hacen notar Unna y Kölliker, dan en las secciones perpendiculares la apariencia de inclusiones granulosas intraprotoplásmicas. De aquí el error de Ranvier, que tomó dicho aspecto como indicio de la presencia de su pretendida *oniquina*.

La zona córnea de la uña puede compararse por su dureza, transparencia y brillantez al *estrato lúcido* de la piel. Falta la capa córnea superficial; es decir, la formada de escamas brillantes sin núcleo. No sucede lo mismo en la época embrionaria: sobre la uña propiamente dicha, se halla una zona córnea floja, análoga al epidermis superficial cutáneo y designada *hiponiquión;* pero del quinto al sexto mes de la vida fetal se desprende y queda la zona lúcida al descubierto.

CAPÍTULO XXXIII

TEJIDO TEGUMENTARIO

Definición. — Desígnase *tejido tegumentario* á la trama membranosa que reviste las superficies limitantes del organismo, y que resulta de la mezcla del tejido epitelial con el conectivo y vascular.

Es preciso distinguir desde luego dos clases de tegumentos: el *cutáneo* y *el de las mucosas*.

TEGUMENTO EXTERNO Ó CUTÁNEO

Caracteres macroscópicos. — La piel es una cubierta elástica semitransparente que tapiza las superficies exteriores del cuerpo y se continúa con las mucosas ó tegumento interno, al nivel de las aberturas naturales.

El color de esta membrana varía según las razas, desde el negro al blanco, pasando por el moreno y el amarillento. El matiz moreno que la piel ofrece en ciertas regiones, así como el color obscuro de los individuos de raza negra, se debe á la existencia, en el espesor del dermis, de células conectivas melánicas. El espesor del tegumento es también harto variable: delgado en la mejilla, brazo, pene, etc., alcanza algunos milímetros de espesor en la planta del pie y pulpejo de los dedos. Sus superficies no son lisas: la externa, aparte de los pelos y del lanugo que la erizan, exhibe numerosas eminencias circuídas por surcos poligonales; en la planta del pie y palma de la mano las elevaciones superficiales adquieren disposición de crestas paralelas ú ondeadas, en cuyas cúspides se advierten los orificios de las glándulas sudoríparas

Por su cara interna, la piel se adhiere íntimamente á las apo-

neurosis, cartílagos y huesos, menos en ciertos sitios en que aparece como despegada de estos órganos, mediante extensas cavidades serosas *(bolsas serosas subcutáneas)*.

Caracteres micrográficos. — Examinado un corte perpendicular de la piel, se advierten, aun á simple vista, dos zonas: una semitransparente y superficial, el *epidermis;* otra más opaca y gruesa, el *dermis* ó *corion*.

a) **Dermis.** — Esta formación resulta de la agregación y entretejimiento del tejido conectivo, los vasos sanguíneos y linfáticos, las glándulas sudoríparas y sebáceas y los folículos pilosos. El principal factor es el tejido conectivo laxo, el cual, por ofrecer densidad diversa en sus distintos planos, se ha dividido en dos estratos: *dermis superficial* y *tejido conectivo subcutáneo*. Este último contiene comunmente en sus mallas células adiposas, y toma la designación de *panículo adiposo* (véase *tejido adiposo*).

Dermis superficial. — Consta de hacecillos conectivos orientados en todos sentidos, aunque dominando el perpendicular á la piel. Entre estos hacecillos yacen las células fijas y emigrantes, y una gran cantidad de fibras elásticas, ya sueltas, ya anastomosadas, fácilmente revelables por el ácido acético.

El dermis superficial se subdivide en *papilar* y *reticulado*, es decir, en externo é interno.

El *dermis papilar* ha recibido esta designación por las papilas que accidentan su cara externa en contacto con el epidermis. Las papilas son elevaciones mamelonadas (fig. 506, *c)*, ora simples, ora compuestas, es decir, formadas por un grupo de pezoncitos sostenidos en un pedículo común, las cuales están construídas por un tejido conectivo fino y apretado, donde se distribuyen la mayor parte de los vasos y nervios de la piel. Divídense las papilas en vasculares y nerviosas, según que contengan un asa capilar ó un corpúsculo de Meissner. La longitud de tales apéndices oscila entre 200 μ (planta del pie), y 35 á 40 μ (cara, nariz, etc.); su posición no pocas veces es seriada, dejando intervalos lineales correspondientes á los surcos de la piel.

El *dermis reticulado* posee una textura más floja, dependiente de la mayor longitud de los haces, así como de la relativa holgura de las lagunas conectivas. Esta zona, casi desprovista de

capilares y de nervios, posee muchas fibras elásticas y sirve de lazo de unión entre el dermis papilar y el tejido conectivo subcutáneo (fig. 506, C).

El dermis papilar es sumamente vascular: la base de las papilas ofrece una red capilar de anchos vasitos, de la cual surge un asa para el espesor de aquellas elevaciones; por debajo de la red sanguínea reside la terminal linfática, enlazada inferiormente con otra red más laxa y de vasos más gruesos, yacente en el corion reticular ó profundo. Un capilar linfático, terminado superiormente en fondo de saco, se prolonga hasta la mitad de la altura papilar.

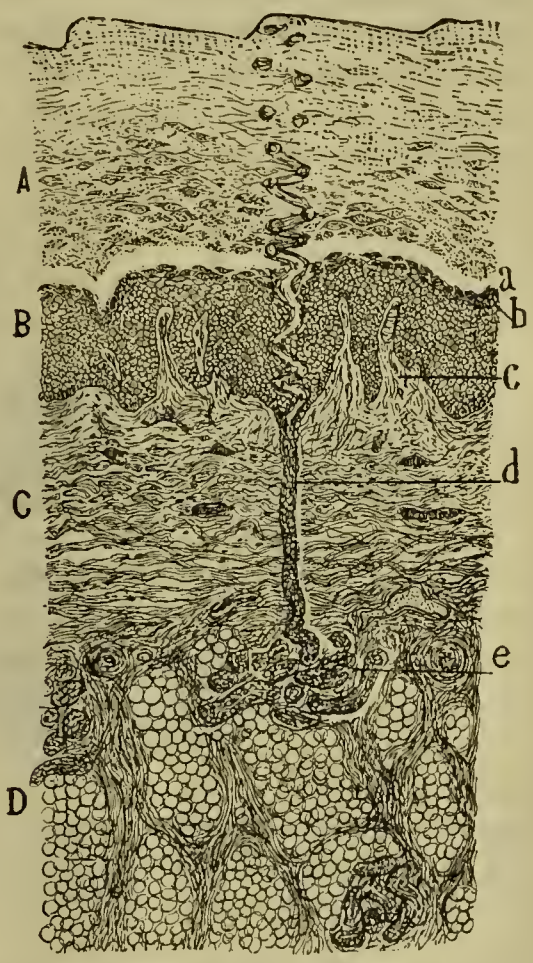

Fig. 506. — Corte perpendicular de la piel del pulpejo de un dedo.— A, epidermis córneo; B, cuerpo de Malpigio; C, dermis superficial; D, tejido conectivo subcutáneo con lóbulos adiposos; *a*, estrato lúcido; *b*, zona granulosa; *c*, papila; *d*, conducto excretor de una glándula sudorípara; *e*, glomérulo terminal de ésta.

Tejido conectivo subcutáneo. — Se compone de gruesos haces entrecruzados y de no menos amplias lagunas conectivas, que sirven para dar movilidad á la piel. En muchos puntos, estas lagunas están rellenadas por lobulillos adiposos (tejido adiposo subcutáneo), y además, por los glomérulos de las glándulas sudoríparas, bulbos pilosos y fondos terminales de las glándulas sebáceas (fig. 506, D). Cada uno de estos órganos posee una red capilar especial, continuada

hacia afuera con la sanguínea del corion superficial, y hacia adentro con la tupida que rodea las células adiposas (fig. 507, E).

Epidermis. — Es la capa semitransparente formada de tejido epitelial pavimentoso, que reviste exteriormente el dermis, con el cual se enlaza íntimamente. El epidermis rellena los huecos que resultan entre las papilas, suavizando exteriormente todas las desigualdades del corion, aunque no tanto que las grandes series de papilas y profundos surcos del dermis, no se traduzcan por elevaciones correspondientes en la superficie epidérmica.

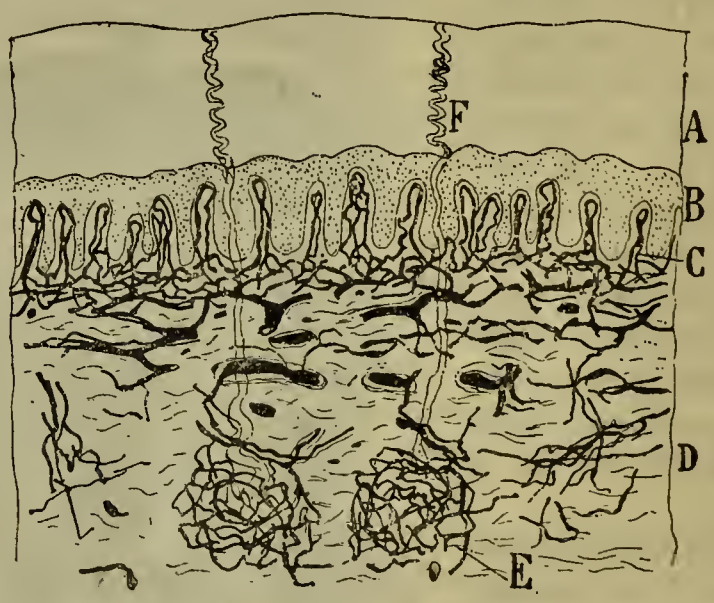

Fig. 507. — Corte de la piel del pulpejo de un dedo. Inyección por el carmín de los capilares sanguíneos. — A, epidermis; B, dermis; C, capilar de una papila; D, capilares del dermis reticular; E, capilares del glomérulo de una glándula sudorípara; F, conducto excretor de la misma.

Se compone el epidermis de dos capas principales: el *epitelio córneo,* constituído de células aplanadas exentas de protoplasma y núcleo, es decir, transformadas en queratina, y el *cuerpo mucoso* ó capa de Malpigio, donde se hallan elementos epiteliales vivos provistos de protoplasma, núcleo, membrana y filamentos comunicantes. El grosor del cuerpo de Malpigio es casi uniforme, bien que algo más delgado donde la piel es fina (labios, mejillas, párpados); mientras que el epidermis córneo varía mucho en espesor, guardando relación con la intensidad y frecuencia de

los roces y presiones que tienden á desgastarlo; así en la mejilla no pasa de 3 á 4 centésimas, en tanto que en el pulpejo de los dedos se acerca á un milímetro.

Tocante á los detalles estructurales del epitelio, nada diremos aquí; la descripción dada en las págs. 278 y siguientes, nos dispensa de insistir nuevamente sobre el particular.

MUCOSAS

Definición. — Las mucosas son ciertos tegumentos internos de origen comunmente entodérmico, comunicantes con la piel al nivel de las aberturas naturales, y constituídos por un epitelio transparente y un dermis recorrido por numerosas glándulas que humedecen constantemente la superficie libre.

Caracteres físicos y disposición general. — El aspecto de las mucosas es el de membranas grisáceas, elásticas, semitransparentes, humedecidas por las secreciones, y particularmente, por la mucina.

A la manera de la piel, tienen que considerar las mucosas una superficie libre y otra adherente. La cara libre se presenta erizada de eminencias, unas veces largas y filamentosas, como en el intestino (vellosidades), y otras gruesas y cortas (papilas). Entre las papilas son notables las que se observan en la superficie de la lengua, las cuales, por su morfología, han recibido nombres diversos: *fungiformes* cuando se trata de eminencias redondeadas, cortas, sostenidas por un cuello breve y no muy estrecho; *circunvaladas* ó *caliciformes* cuando constituyen una eminencia semi-esférica separada del resto por un canal circular hondo; *filiformes* cuando la elevación es cilíndrica, prolongada y se termina en un pincel de papilas secundarias. La superficie profunda de las mucosas está adherida, mediante hacecillos conjuntivos, á las cubiertas de los órganos circundantes (músculos, glándulas, etc.).

Clasificación. — Atendiendo á la disposición del epitelio que las reviste, las mucosas pueden agruparse en dos clases: *mucosas de epitelio pavimentoso estratificado,* como son la bucal, faríngea, esofágica, conjuntival, de los órganos genitales exter-

nos, vías urinarias, conducto auditivo externo, etc.; y *mucosas de epitelio alargado,* á saber· la nasal, intestinal, traqueo-pulmonar, órganos genitales internos, etc.

a) *Mucosas de epitelio aplanado ó pavimentoso.*—Se asemejan mucho á la piel, y como ésta poseen un epidermis pavimentoso estratificado y un dermis, tanto más grueso cuanto más rica en glándulas es la mucosa.

El *epidermis* consta en las mucosas más espesas, tales como la bucal y esofágica, de diez á doce hileras de células aplastadas, distribuídas en tres zonas principales: la *inferior* ó *germinal,* compuesta de una sola fila de corpúsculos turbios, cuboideos ó prismáticos, escasos en protoplasma, y provistos de núcleo casi siempre en vías de mitosis; la zona *media,* constituída por cuatro ó seis hileras de elementos gruesos, granulosos, poliédricos, tanto más aplastados cuanto más superficiales, y unidos entre sí por hilos comunicantes bien perceptibles, y la zona clara ó *superficial,* la más espesa, edificada de varias hileras de corpúsculos complanados, transparentes, de protoplasma casi hialino, colorable por el ácido pícrico, y portador de un núcleo aplanado y atrofiado. Por superficiales que sean las células, el núcleo no falta jamás, lo que distingue perfectamente el epidermis córneo de la piel del aplanado superficial de las mucosas pavimentosas.

En ciertas mucosas delgadas el número de células epiteliales se reduce, experimentando éstas algunas variantes morfológicas que conviene conocer. Así, en la *vejiga urinaria* sólo existen tres filas de elementos: la *profunda,* que resulta de la alineación de células alargadas ó prismáticas y representa la *capa germinal* de otras mucosas; la *media,* que consta de corpúsculos poliédricos con excavaciones inferiores para adaptarse á los corpúsculos germinales; y la *superficial,* que está formada de elementos aplanados ó de escamas transparentes, las cuales, según Dogiel, ofrecerían la particularidad de enlazarse con las células subyacentes á beneficio de una verdadera sutura, es decir, á favor de alvéolos, en cuyo interior penetrarían ciertos apéndices de los elementos de la capa segunda. Entre las células superficiales existirían, además, hilos comunicantes.

En la *conjuntiva,* y sobre todo en el *epitelio corneal* anterior, se ven igualmente tres estratos: el *profundo,* constituído por elementos alargados, provistos inferiormente de una chapa brillante, descompuesta en filamentos paralelos, como la de la zona germinal de la piel; el *medio,* formado de células gruesas, poliédricas, ahuecadas inferiormente para adecuarse á los extremos de los elementos subyacentes; y el *superficial,* construído de tres ó más hileras de células fuertemente aplastadas, transparentes, con núcleo en vías de atrofia. Todas estas células están unidas entre sí, como señalamos nosotros, por hilos comunicantes de una gran delicadeza (1).

b) *Mucosas del epitelio alargado.*—Como todas ellas residen en partes profundas poco expuestas á roces y colisiones, el epitelio suele ser de una sola capa, y representa verosímilmente la zona germinal de la piel. En cambio, el dermis adquiere notable desarrollo, albergando en sus huecos numerosas glándulas y vasos. El tipo de tales mucosas es la intestinal, de la que vamos á hacer una exposición sucinta.

Intestino.—Las paredes intestinales tienen que considerar un epitelio interior, un dermis surcado de glándulas y las túnicas musculares (fig. 510).

1.° El *epitelio* es prismático con chapa, y por haber sido estudiado en otra parte (págs. 282 y 283) no lo detallaremos aquí.

Recordemos, no más, que sus células son prismas, en general de seis facetas; que de sus extremos ó polos, el superficial ó secretor está barnizado por una cubierta ó chapa estriada, y el inferior, penetrante en el dermis, se estira á menudo en apéndice inserto en una membrana basal subyacente (fig. 511, D).

Tengamos presente, además, que entre los corpúsculos de chapa se hallan aquí y allá, irregularmente diseminados, elementos caliciformes (fig. 511, B). En fin, repitamos aún que la mucina depositada en el cáliz es elaborada por ciertos granitos coloreables por el proceder de Heidenhain correspondiente á las granulaciones vivientes de las glándulas (figs. 508 y 509, *b*).

(1) *Cajal:* Contribution à l'étude des cellules anastomosées, etc. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Hist.* Bd. III, 1886.

El aparato de Golgi de las células caliciformes coloréase bien en el intestino del perro y gato jóvenes con ayuda del proceder del urano-formol, el cual impregna también en pardo ó rojo claros todo el protoplasma celular. Merced á esta singular selección (de que carecen los elementos de chapa), es dable seguir en un mismo corte todas las fases recorridas por los corpúsculos caliciformes, desde el estado de descanso al de expulsión de su contenido granular (fig. 508).

Estas fases son: *a, Estado de descanso:* Expulsada la secreción, cae la célula en una situación de atrofia, mostrando soma delgado, puntiagudo, hacia la superficie libre y en posesión de un diminuto y granular retículo de Golgi (1). *b, Estado regenerativo:* El soma aumenta en volumen, enriqueciéndose la red de Golgi con nuevos lobulillos y cordones (2), mientras que las granulaciones del proto-

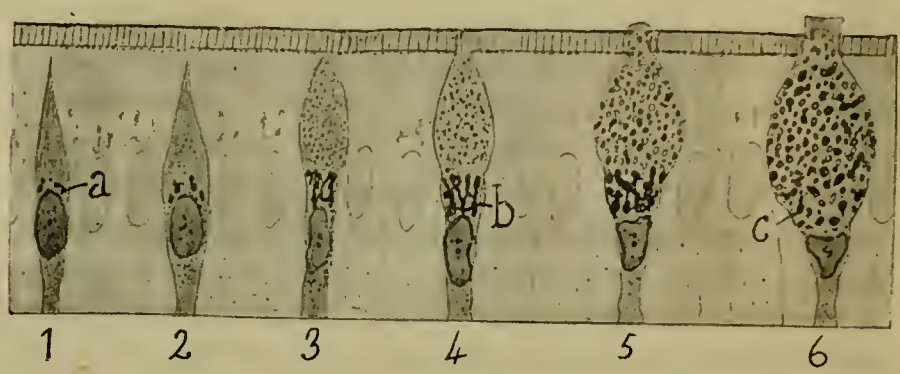

Fig. 508. — Diversas fases funcionales de las células caliciformes del intestino. Gato joven. Proceder del urano-formol. — 1, fase de descanso; 2 y 3, fase de regeneración incipiente; 4 y 5, fases de secreción; 6, fase terminal ó de excreción; *a,* aparato de Golgi atrófico; *b,* aparato de Golgi hipertrófico.

plasma se multiplican y espesan (3). Al final de esta fase (4) el aparato de Golgi se hipertrofia, ocupando un segmento especial del cuerpo celular, á menudo ensanchado en huso. *c, Estado de gruesas esférulas:* La porción supranuclear del soma se dilata en vientre voluminoso (5), apareciendo en su interior numerosas y recias esferas de zimógeno; el aparato de Golgi alcanza el sumo de la hipertrofia, y, en fin, ábrese la chapa para dar salida al producto elaborado (figura 508, 5). *d, Fase de expulsión:* El núcleo adquiere forma triangular, descendiendo de plano, y el vientre del cáliz vierte su carga secretoria en el intestino. En fin, la red de Golgi disgregada parece expulsarse también con el producto secretorio (6).

Además de los elementos típicos, se han encontrado en ciertos animales (rana, conejo de Indias, etc.), células epiteliales cuyo protoplasma encierra granitos de un fermento protéico que

atrae las grasas saponificadas del intestino y las transforma en grasas neutras (Nicolas). En ciertos animales (rana, tritón), vénse también unas células esferoidales, cargadas de granitos, que, por su parecido con los leucocitos, se han tomado por corpúsculos emigrantes. Mitosis no se ven jamás en el epitelio intestinal, por lo cual Bizzozero opinaba que la reparación de este epitelio corre á cargo de las células de las glándulas de Lieberkühn; para comprender esto, es preciso suponer que, á cada célula intestinal descamada, sigue un movimiento de avance del epitelio de la vellosidad, así como del que tapiza las glándulas tubulosas, á partir del paraje en que se verifica la mitosis.

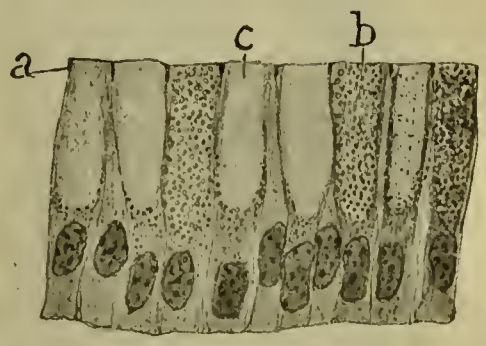

Fig. 509. — Epitelio caliciforme de la entrada de las glándulas pépsicas del perro. — *a*, banda de cierre; *b*, célula con granulaciones de mucígeno; *c*, célula en que el mucígeno se ha convertido en mucina.

2.° El *dermis intestinal* es espeso y presenta dos subzonas: la papilar y la glandular.

La *zona papilar* toma este nombre de la presencia de unas expansiones cónicas, paralelas, digitiformes, que prestan un aspecto velloso á la superficie intestinal. Un corte de la vellosidad permite distinguir varias zonas concéntricas: 1.°, la membrana basal, capa fibrosa espesa, perforada ó discontinua y sembrada de núcleos, la cual limita exteriormente la trama conectiva de la vellosidad y sirve de punto de inserción á las expansiones descendentes del epitelio (fig. 511, E); la *zona musculo-vascular,* compuesta de una red capilar sanguínea continuada inferiormente con dos vasos, uno arterial y otro venoso, y reforzada por fuera por un plano de fibras musculares lisas, por cuyas contracciones la vellosidad puede encogerse y alargarse; y *una zona axial ó central* donde se alberga un grueso capilar linfático terminado en fondo de saco en lo alto de la vellosidad. Todas estas partes hállanse trabadas por finos hacecillos conectivos asociados á escasas células estrelladas ó

fusiformes. El centro de la vellosidad, particularmente en su porción superior, encierra un grupo de células ganglionares estrelladas, indicadas por Drasch y detalladamente descritas por nosotros. Un plexo nervioso fino continuado con el periglandular vecino, suministra arborizaciones terminales á los corpúsculos musculares de la vellosidad (fig. 514, *b*).

Fig. 510. — Corte transversal de las paredes del duodeno del conejo Indias. Coloración por la hematoxilina.—A, vellosidades; B, capa glandular superficial ó de las glándulas de Lieberkühn; C, túnica muscular de la mucosa; D, capa glandular profunda ó de las glándulas de Brunner; E, capa de las fibras musculares circulares; F, fibras musculares longitudinales; *a*, una célula caliciforme; *b*, red vascular; *c*, glándula de Brunner; *d*, ganglio del plexo de Meissner; *e*, ganglio del plexo de Auerbach.

La *zona glandular* es muy espesa y se subdivide en dos capas: glandular superficial y glandular profunda ó tejido conectivo submucoso. Estos planos conectivo-glandulares están separados entre sí á favor de una membrana de fibras musculares lisas.

El *plano glandular superficial* se compone de un tejido conectivo intercalar fino, rico en células fijas emigrantes, y de numerosas glándulas tubulosas ó de Lieberkühn. Estas glándulas se disponen de un modo paralelo y acaban en un fondo

de saco que, algunas veces, como se veía en la preparación que copia la figura 512, C, se muestra bifurcado. El conducto glandular es un simple tubo, sin ramificaciones colaterales.

El plano *glandular profundo* consta: de un tejido conectivo flojo compuesto de gruesos fascículos entrecruzados, y de tres especies de glándulas: las glándulas de Brunner, los folículos solitarios y las glándulas de Peyer.

Fig. 511. – Corte axial de una vellosidad intestinal del conejo de Indias. Sección, previa inclusión en parafina. — A, célula epitelial con chapa; B, célula caliciforme; D, expansión profunda de una célula epitelial; E, núcleo de la capa fibrosa ó membrana basal; F, células ganglionares del centro de la vellosidad.

Las *glándulas de Brunner* residen en el duodeno y pertenecen en realidad á las tubulosas compuestas, aun cuando se las considera generalmente como arracimadas. El conducto excretor es ancho y casi recto mientras circula por la capa glandular superficial; pero en cuanto atraviesa la muscular mucosa, se estrecha súbitamente, descomponiéndose en tres ó más tubitos oblícuos ú horizontales, que penetran en los divertículos glandulares ó porción secretora de la glándula. Estos divertículos son alargados y poseen una membrana propia y una hilera epitelial gruesa, formada de corpúsculos claros, limitantes de la luz glandular. Como en las glándulas salivares, mucosas, etc., de cada tubo central parten numerosos tubos colaterales, insinuados entre las caras laterales de los elementos epitélicos, y terminados en fondo de saco, sin alcanzar nunca la membrana propia (fig. 512, D). Semejante disposición, demostrada primeramente por nosotros con el cromato argéntico (1), aproxima singularmente las glándulas de Brunner á las llamadas *salivares serosas*. En ciertos casos, la glándula de Brunner consta de tres ó más lobulillos, cuyos conductos excretores rectos se

(1) *Cajal: Los ganglios y plexos nerviosos del intestino.* Madrid, 1893.

juntan en un tronco común antes de desaguar en el intestino (figura 512, E); en fin, las células epiteliales de estas glándulas encierran un aparato de Golgi bien desarrollado y constante.

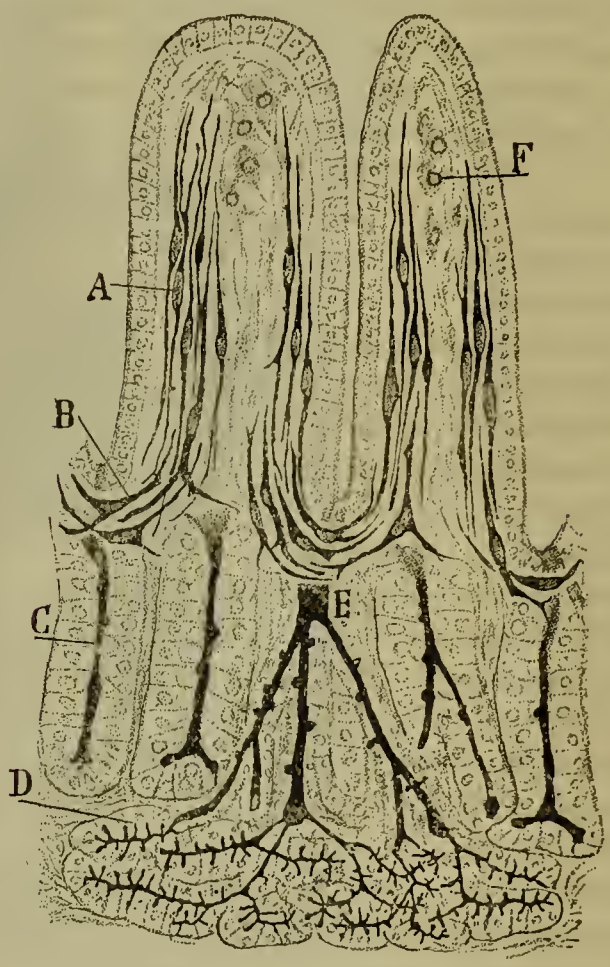

Fig. 512. — Corte de las vellosidades y glándulas del intestino del conejo de Indias de pocos días. — A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta; C, interior de una glándula de Lieberkühn; D, acini terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

Los *folículos solitarios* y *glándulas de Peyer* no son otra cosa que ganglios linfáticos simplificados, yacentes por debajo de la muscular mucosa, entre ésta y la capa de fibras musculares circulares. Los folículos solitarios representan grumos aislados de tejido citógeno, enteramente idéntico al de los folículos de los ganglios linfáticos; mientras que las glándulas de Peyer son

órganos más voluminosos, resultantes de la reunión de un gran número de tales folículos. Por lo demás, las relaciones establecidas entre estos folículos ó masas linfoides y los vasos linfáticos, coinciden enteramente con lo que sabemos de los ganglios.

2.° *Túnica muscular.* — Por debajo del dermis profundo ó tejido conectivo submucoso, se halla una gruesa capa de fibras musculares lisas, dividida en dos planos: superficial ó de fibras longitudinales; profundo, mucho más grueso ó de fibras circulares. Estas fibras son robustas y están unidas por un cemento homogéneo surcado por el plexo nervioso terminal. En estos

Fig. 513. — Corte transversal de un ganglio del plexo de Auerbach del intestino del conejo de Indias. — *a*, haz nervioso de paso; *b*, ramas colaterales terminadas libremente en el ganglio.

últimos tiempos, Boheman, Bruyne y otros, han creído ver puentes comunicantes, análogos á los de los corpúsculos tegumentarios, entre las células musculares. En nuestras preparaciones al cromato de plata, semejantes puentes nos han parecido meras espinas, que saliendo del protoplasma de una célula se pondrían en contacto con la de los vecinos elementos. Tampoco el método de Ehrlich, que colora intensamente las fibro-células, revela las pretendidas hebras comunicantes.

Entre la capa de fibras musculares circulares y la de fibras longitudinales, yace el plexo de Auerbach, centro auto-motor del intestino formado por una red de haces nerviosos simpáticos, en cuyos puntos nodales residen acúmulos de células nerviosas (figs. 510, *e*, y 513).

Cada ganglio de Auerbach muestra dos clases de células: 1.° Unas son pequeñas (fig. 515, A, E) y están provistas de un cilindro-eje ó fibra del plexo susodicho y de apéndices protoplásmicos, cortos, groseros, verrugosos y acabados libremente dentro del ganglio. Tales corpúsculos, señalados por Dogiel, se colorean bien por el método de Ehrlich, pero no por el de Golgi. 2.° Célu-

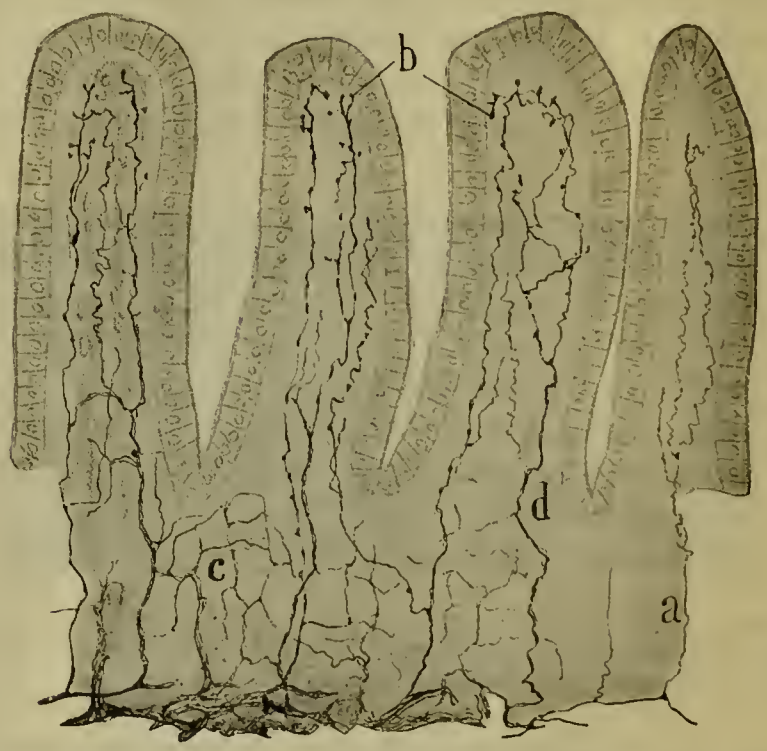

Fig. 514. — Plexos periglandular é intravelloso del intestino del ratón de pocos días. — *a*, filamento ascendente nacido de un haz del plexo de Meissner; *b*, terminaciones libres á favor de una varicosidad; *c*, plexo nervioso que rodea las glándulas de Lieberkühn.

las más grandes, probablemente menos numerosas, cuyas expansiones, todas largas, ingresan en los cordones interganglionares, ignorándose su paradero (B). Contra el parecer de Dogiel, nosotros no hemos podido convencernos de la existencia en tales células de axon y de prolongaciones protoplásmicas; todas las expansiones parecen tener igual carácter, y es imposible seguirlas hasta su terminación. Así que juzgamos sumamente temeraria la hipótesis del sabio ruso, quien supone que las citadas expan-

siones, menos el axon, representan fibras sensitivas y se distribuyen en las vellosidades intestinales. 3.° Fibras finas y medianas

Fig. 515. — Ganglio del plexo de Auerbach del intestino del conejo. Método de Ehrlich. — A, células de axon único y largo; células al parecer provistas de muchos axones (según La Villa).

de paso, que van de un ganglio á otro, suministrando en torno de las células ramitas nerviosas colatereles y terminales. 4.° Fibras gruesas gigantes, llegadas acaso de la médula, que se dividen y

subdividen en los ganglios, suministrando ramificaciones pericelulares para una gran parte de los focos de Auerbach (1).

Fig. 516. — Células estrelladas pequeñas perigangliónicas é intersticiales del intestino del conejo. (Método de Ehrlich). — A, células estrelladas; B, brazo anastomótico aparente entre dos células; C, célula marginal perigangliónica.

Entre las fibras musculares circulares y el tejido conectivo submucoso, es decir, por debajo del plano glandular profundo,

(1) Para más detalles, véase el trabajo de La Villa. Las células y fibras nerviosas del intestino. *Rev. trim. micr.*, núm. 3, 1897.

En los contornos de los ganglios y al nivel de las mallas del plexo, se ve también un gran número de células triangulares ó estrelladas cuyas expansiones varicosas y muy ramificadas penetran entre los haces de fibro-células

se halla otro plexo, menos rico que el anterior, llamado *plexo de Meissner* (fig. 517, C). En sus puntos nodales residen también acúmulos de células ganglionares, y de sus haces nerviosos pro-

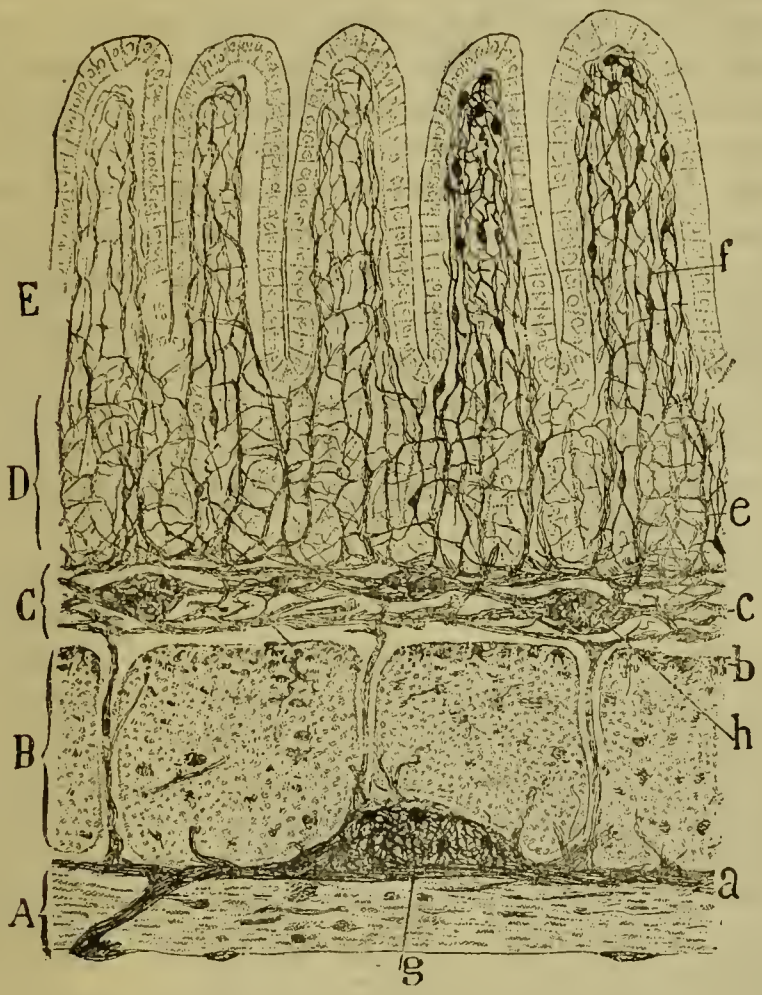

Fig. 517. — Esquema del sistema nervioso del intestino delgado. — A, capa de fibras musculares longitudinales; B, fibras musculares transversales; *a, g,* plexo de Auerbach; C, tejido conectivo submucoso con el plexo de Meissner; D, capa de las glándulas de Lieberkühn; E, vellosidades.

ceden las fibras destinadas á las glándulas y vellosidades intestinales. Las células nerviosas parecen todas de aquella variedad cuyas prolongaciones carecen de diferenciación en nerviosa y

y acaso se terminan en las mismas. Las expansiones de semejantes células, llamadas *Cajal'sche Zellen* por Dogiel, que las ha confirmado en el conejo de Indias, parecen todas de la misma naturaleza; á menudo, adosándose unas á otras, engendran un plexo secundario de mallas longitudinales.

protoplásmicas. Tales expansiones van de un ganglio á otro, siendo imposible determinar su paradero ni con el método de Golgi ni con el de Ehrlich.

En fin, la periferia de los ganglios de Auerbach, así como los intersticios entre los paquetes de fibro-células, contienen infinidad de corpúsculos fusiformes ó estrellados descubiertos por nosotros merced al azul de metileno (fig. 516, A). Tales elementos, que reproducimos en la figura 516, constituyen plexos de hebras varicosas cuyas relaciones con las fibras musculares no hemos podido establecer. También Dogiel y La Villa han confirmado la presencia de tan singulares elementos.

Los datos anteriores se refieren al intestino delgado. El *intestino grueso* posee la misma estructura, con sólo descontar las vellosidades, que no existen. Las glándulas de Lieberkühn están bien desarrolladas, así como los folículos solitarios y las túnicas musculares.

En el estómago la estructura de las paredes coincide también con el intestino. Faltan las vellosidades, y el dermis glandular comprende un solo plano, el de las glándulas pépsicas. Entre las túnicas musculares, superficial y profunda, yace asimismo un plexo rico en ganglios comparable al de Auerbach. Otro plexo más fino, del cual provienen las ramitas nerviosas de las glándulas pépsicas, se halla por debajo del plano de fibras circulares, es decir, en el tejido conectivo subglandular. El plexo nervioso que rodea las glándulas pépsicas, se termina por ramitos libres apoyados exclusivamente sobre la cara externa de las células secretoras.

CAPÍTULO XXXIV

TEJIDO SEROSO

1.° **Definición.** — Las serosas son membranas cerradas, de origen mesodérmico, situadas sobre órganos movibles y compuestas de dos tejidos simples: el epitelial y el conjuntivo. La trama particular que resulta de la asociación de estos tejidos en todas las serosas, constituye el *sistema ó tejido seroso.*

2.° **Disposición general y caracteres físicos.** — Las serosas son sacos cerrados cuyas superficies interiores, lubrificadas por mayor ó menor cantidad de líquido albuminoide, hállanse ordinariamente en mutuo contacto.

Residen las serosas en todos los parajes del organismo donde hay dos superficies orgánicas movibles y contiguas, cuya frotación conviene disminuir. Cuando no son órganos voluminosos los que deben frotarse, sino pequeñas porciones de tejidos, en lugar de grandes serosas, existen pequeñas cavidades de deslizamiento, que son las lagunas del tejido conjuntivo laxo. A beneficio de estas lagunas, se mueve la piel sobre las aponeurosis, el globo ocular sobre los órganos vecinos, los músculos sobre sus cubiertas, etc. Entre las pequeñas cavidades del tejido conectivo y los grandes espacios serosos viscerales y articulares, existen transiciones de forma y de estructura; de modo que si cabe considerar aquéllas como serosas rudimentarias, cabe también estimar los últimos como lagunas conectivas ampliadas y transformadas.

La pared de las serosas, aunque continua consigo misma, consiente una distinción en dos hojas: una *parietal* y otra *visceral.* La parietal tapiza la parte fija ó continente; la visceral, el órgano movible ó contenido. La primera es densa, fibrosa, poco adherente y refuerza las paredes de las cavidades esplácnicas.

La segunda es más delicada y transparente, adhiriendo íntimamente á los órganos que reviste. Estos órganos nunca son aforrados por completo por la hoja visceral; quedan siempre parajes por los que, sin obstáculo alguno, pueden llegar á los mismos los tejidos de relación interorgánicas (vasos y nervios). Al nivel del paso de estas partes vectoras, la hoja visceral se reune con la parietal, constituyendo á menudo repliegues ó ligamentos.

3.° **Clasificación.** — Poseyendo las serosas una textura muy semejante, es difícil clasificarlas según un criterio histológico puro. Más fáciles y aplicables parecen los principios anatómicos y topográficos. Bichat agrupaba las serosas en dos clases: *serosas propiamente dichas* y *serosas sinoviales*. Colocaba entre las primeras las esplácnicas, y subdividía las segundas en verdaderas ó falsas, según se tratara de las articulares ó de las bolsas subcutáneas. Henle, con mejor acuerdo, basó su clasificación en el concepto estructural, separando las serosas en: *verdaderas* ó *completas,* caracterizadas por carecer en todo ó en parte del epitelio (subcutáneas y tendinosas). Nosotros nos atendremos á este ordenamiento.

4.° **Caracteres microscópicos.** — *Serosas verdaderas* ó *esplácnicas*. Compréndense en este grupo: el peritoneo, las pleuras, el pericardio, la vaginal ó testicular, la aracnoides y las articulares. Expondremos primero los caracteres histológicos comunes á estas membranas, y después los referentes á algunas de ellas.

Toda serosa contiene dos capas: la *conjuntiva* y la *endotelial*. La conjuntiva está constituída por hacecillos colágenos, finos, entrecruzados en todos sentidos, dirigidos paralelamente á la superficie, y unidos flojamente por cierta cantidad de materia amorfa semisólida. Estos hacecillos constituyen una capa aislada y coherente en los ligamentos (omentos, epiplones) que enlazan la hoja parietal con la visceral; pero se confunden en los demás casos con el tejido conectivo subseroso. A los hacecillos supradichos se asocian, en proporciones variables, fibras elásticas finas y vasos capilares dispuestos en red ó malla membranosa. Ciertos autores admiten (Bizzozero, por ejemplo), entre el tejido conectivo y el endotelio, una capa análoga á las mem-

branas basales de otros epitelios. Dicha capa ofrecería aspecto granuloso ó ligeramente estriado.

El epitelio es aplanado y de una sola capa, excepto en las serosas articulares, donde muestra en ciertos puntos verdadera estratificación. Las células son poligonales, y sus contornos flexuosos é irregulares, ofrecen á menudo, después de la coloración negra por el nitrato de plata, puntos negros (estomas de los au-

Fig. 518. — Endotelio del mesenterio de la rana. Coloración con el nitrato de plata y carmín. — A, endotelio de un capilar sanguíneo; B, endotelio del mesenterio.

tores). Cuando una serosa se estira antes de ser impregnada, las células se despegan por sus bordes, menos por ciertos puntos, donde quizá existen hilos de comunicación, como los que demostramos en la membrana de Descemet. Estos puentes han sido recientemente señalados por Kolosow, que los ha teñido por el método del tanino y ácido ósmico.

La serosa peritoneal ofrece, además de la textura general indicada, una disposición especial al nivel del epiplón mayor. Este repliegue presenta el aspecto de una redecilla de mallas apreta-

das y desiguales. Visto al microscopio, se advierte que cada trabécula está constituída por fascículos de tejido conectivo y células aplanadas. Las trabéculas más espesas llevan un vaso capilar, contienen á menudo células grasientas y constan de numerosos fascículos superpuestos. En torno de las trabéculas, por delicadas que sean, pasa el endotelio peritoneal, recubriéndolas á la manera del epitelio peritendinoso.

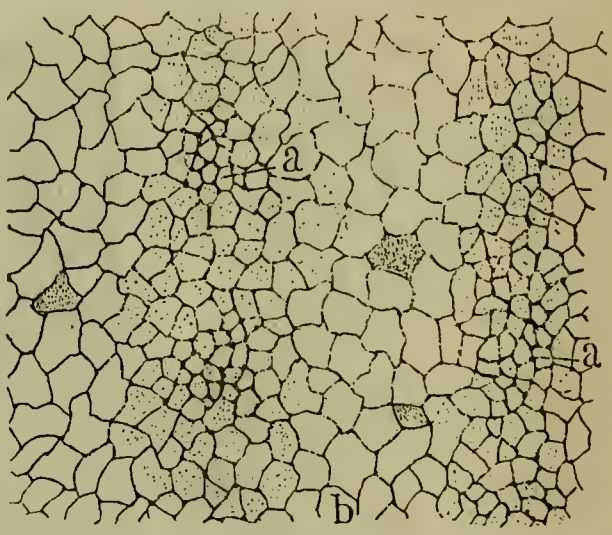

Fig. 519. — Endotelio peritoneal que tapiza la cara inferior del centro frénico del diafragma del conejo. Coloración por el nitrato de plata. — *a*, células epiteliales pequeñas yacentes al nivel de una depresión; *b*, células más grandes correspondientes á la eminencia formada por un haz tendinoso.

Las *serosas falsas*, tales como las *peritendinosas* y las *subcutáneas*, ofrecen una capa conectiva difícilmente aislable de los tejidos próximos, y poco rica en vasos y fibras elásticas. El endotelio es discontinuo y está representado por células conectivas aplastadas que revisten un número mayor ó menor de fascículos limitantes. Estas serosas representan la transición entre las esplácnicas y las cavidades del tejido conectivo.

Ciertos autores han supuesto la existencia de comunicaciones entre las serosas y los vasos linfáticos. Cítanse, entre otras, ciertas aberturas que, según Ludwig, Schwiger-Seidel y Ranvier, se hallarían en el centro frénico del diafragma, y merced á las cuales la cavidad peritoneal se continuaría con los capilares linfáticos de este músculo.

Tales aberturas se presentarían, en las impregnaciones por el nitrato de plata, cerradas fiojamente por un tapón de leucocitos (Ranvier); pero el examen atento del centro frénico nitratado, prueba que los pequeños elementos dispuestos en islotes y que han parecido leucocitos, son sencillamente células epiteliales (fig. 519, *a*), unidas por un cemento abundante y sin relación de continuidad con los lin-

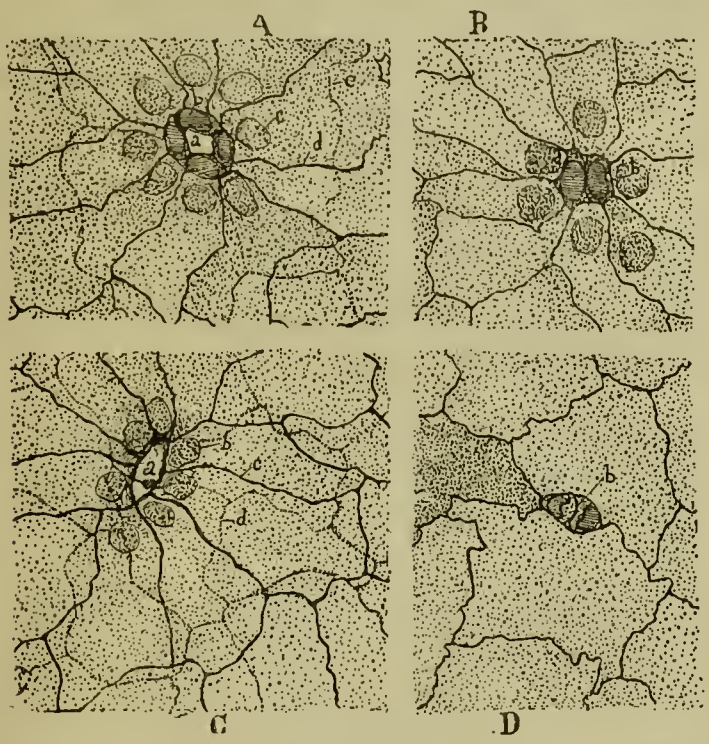

Fig. 520. — Membrana retroperitoneal de la rana. Impregnación por el nitrato de plata.

A. Una abertura linfática enfocada por la superficie peritoneal; *a*, agujero; *b*, células pequeñas marginales; *c*, núcleo de las células endoteliales divergentes; *d*, cemento.
B. Un estoma linfático en vías de producción. Las células epiteliales convergen en *b* y la abertura está tapada por dos células pequeñas.
C. Forma de estoma linfático más frecuente. Las células epiteliales pequeñas de las anteriores figuras parecen haberse desprendido.
D. Abertura mirada por el lado linfático; vénse en *b* dos células obstruyéndola.
Nota. — Las lineas punteadas de las figuras A y C representan el endotelio linfático y las negras el peritoneal.

fáticos. Por lo demás, la talla y la extensión superficial de los endotelios guarda relación con el grado de distensión de la serosa: en las partes salientes del diafragma, las células son anchas y delgadas; en los huecos ó fosetas, el endotelio se achica al par que se engruesa, como sucede en los islotes mencionados, los cuales corresponden á espacios ó resquicios interfasciculares tendinosos (fig. 519, *a*).

Más positivas son las comunicaciones descubiertas por Dogiel y Schweiger-Seidel entre la cavidad peritoneal y la gran cisterna linfática de la rana. Esta cisterna es un depósito linfático situado delante de la columna vertebral por detrás del peritoneo parietal posterior. El septo ó pared que separa ambos espacios posee dos endotelios: uno posterior ó linfático, compuesto de grandes células poligonales de bordes irregulares, y otro anterior ó peritoneal, formado por elementos endoteliales, más ó menos alargados y dispuestos frecuentemente en estrellas. Examinando atentamente las aberturas de comunicación, se advierte que corresponden siempre al foco resultante de la convergencia de las células endoteliales. En las aberturas más anchas, el hueco carece de células limitantes; pero en las más estrechas se ven tres ó más corpúsculos pequeños, obscuros, casi exentos de protoplasma, que bordean el orificio (fig. 520, A, *b*).

Finalmente, se reconocen también algunos poros herméticamente cerrados, y que acaso representen comunicaciones en vías de construcción (fig. 520, B, D, *b*).

Las comunicaciones seroso-linfáticas que acabamos de exponer, no tienen carácter general; hasta hoy sólo se han descrito en el peritoneo de los batracios.

FIN

ÍNDICE DE MATERIAS

Prólogo de la primera edición v
Prólogo de la sexta edición vii

PARTE PRIMERA

TÉCNICA GENERAL

Capítulo I. — *Técnica general y su división.* — Instrumentos de observación. — Microscopio simple 1
Cap. II. — *Microscopio compuesto.* — Teoría del objetivo y del ocular. — Doctrina de la visión microscópica según Abbe. 8
Microscopio compuesto teórico 8
Microscopio compuesto en la práctica 16
Diversos tipos de microscopios fabricados para fines especiales 32
Cap. III. — *Continuación de la parte óptica del microscopio compuesto.* — Propiedades de los objetivos. — Oculares.. 36
Cap. IV. — *Accesorios del microscopio.* — Cámaras claras. — Microfotografía 44
Cap. V. — *Continuación de los accesorios del microscopio.* — Micrómetros, aparatos numeradores, aparato de polarización, micro-espectroscopio 58
A. Micrómetros 58
B. Aparato numerador de glóbulos 60
C. Aparato de polarización 62
D. Micro-espectroscopio 64
Cap. VI. — *Objetos é instrumentos necesarios en los trabajos micrográficos.* — Porta y cubre-objetos. — Luz. — Microtomos. — Cámaras húmedas y calientes. — Objetos de prueba 68

Cap. VII. — *Reactivos.* — Definición y clasificación de los reactivos. — Reactivos indurantes, fijadores, aclaradores, opacantes, aisladores y alterantes..... 84
Reactivos indurantes..... 85
Fijadores..... 87
Reactivos aclaradores y opacantes..... 90
Reactivos aisladores..... 90
Ablandantes ó alterantes..... 91
Cap. VIII. — *Continuación de los reactivos.* — Reactivos colorantes selectivos. — Reactivos impregnadores. — Reactivos inofensivos y conservadores..... 93
Reactivos inofensivos..... 101
Reactivos conservadores..... 103
Cap. IX. — *Métodos histológicos.* — Clasificación de los métodos. — Método del examen en vida. — Método aislador. — Método de los cortes. — Procederes de coloración. — Método de las inyecciones..... 105
Examen en vivo..... 106
Disociación..... 111
Método de los cortes..... 112
A. Secciones en tejidos blandos..... 113
B. Secciones en tejidos duros..... 130
Inyecciones..... 133
Cap. X. — *Conservación de las preparaciones.* — Conservación en el bálsamo del Canadá y en la glicerina..... 136

PARTE SEGUNDA

ANATOMÍA GENERAL

Capítulo I. — Concepto y división de Histología ó Anatomía general. — Estequiología. — Concepto de los principios inmediatos. — Histología orgánica..... 139
Cap. II. — *Elementología.* — Apuntes históricos..... 143
Cap. III. — Concepto de la célula. — Teoría celular. — Caracteres anatómicos de la célula..... 153
Caracteres anatómicos..... 155
Cap. IV. — *Continuación de los caracteres anatómicos de la célula.* — *Estructura.* — Membrana. — Banda de cierre. — Pestañas y flagelos. — Protoplasma. — Retículo ó espongioplasma. — Ergastoplasma. — Ectoplasma y endoplasma..... 160
Membrana..... 160
Protoplasma..... 163

CAP. V. — Jugo celular ó enquilema. — Esfera atractiva y centrosoma. — Mitocondrias. — Granulaciones coloreables en vivo. — Gránulos glandulares — Productos de secreción. — Inclusiones..... 169
CAP. VI. — Vacuolas. — Aparato reticular de Golgi. — Conductos nutritivos. — Conductos secretorios. — Fenestramientos protoplásmicos. — Núcleos accesorios. — Diferenciaciones celulares en los protozoarios. — Concepciones hipotéticas sobre la construcción del protoplasma..... 182
CAP. VII. — *Núcleo.* — Volumen, forma, estructura. — Armazón cromático, jugo nuclear, nucleolo y membrana nuclear. — Paranucleolos. — Cristaloides intranucleares... 193
CAP. VIII. — *Propiedades químicas de la célula*..... 205
CAP. IX. — *Propiedades fisiológicas de las células.* — Irritabilidad. — Excitantes de la irritabilidad. — Clasificación de las actividades celulares. — División del trabajo..... 210
Funciones nutritivas de las células..... 216
CAP. VII. — *Funciones celulares de relación.* — Movimiento browniano, amiboide, de corrientes protoplásmicas, vibrátil y de oscilación..... 227
CAP. VIII. — *Funciones generativas de las células.* — División celular directa. — División celular indirecta ó carioquinesis. 231
División celular..... 232
1.° Segmentación directa ó amitosis..... 232
2.° Carioquinesis ó segmentación indirecta..... 234
Carioquinesis pluripolar..... 244
Conjugación..... 248
CAP. IX. — *Histología.* — Concepto de Histología. — Definición de tejido. — Clasificación de los tejidos..... 271
CAP. X. — *Tejido epitelial*..... 273
CAP. XI. — *Tejido del cristalino*..... 294
CAP. XII. — *Sangre y linfa*..... 301
Linfa y quilo..... 328
CAP. XIII. — *Tejido de substancia conjuntiva*..... 333
Tejido conjuntivo propiamente dicho..... 333
Variedad conjuntiva laxa..... 334
Variedades conjuntivas (fibrosa, corneal, citógena, elástica, reticular y membranosa)..... 347
CAP. XIV. — *Tejido adiposo*..... 374
Tejido adiposo común..... 374
Tejido medular de los huesos..... 377
CAP. XV. — *Tejido cartilaginoso*..... 385
Variedad cartilaginosa hialina..... 385
Variedades cartilaginosas reticular y elástica..... 391

Cap. XVI. — *Tejido óseo* 400
Cap. XVII. — *Tejido dentario* 421
Cap. XVIII. — *Tejido muscular* 434
Variedad muscular lisa 434
Variedad muscular estriada 441
Cap. XIX.—*Continuación del tejido muscular* 460
Variedades musculares 460
Propiedades fisiológicas 471
Génesis del tejido muscular 476
Cap. XX. — *Tejido nervioso* 487
Cap. XXI. — *Fibras nerviosas ameduladas y meduladas* ... 520
Cap. XXII.—*Terminaciones nerviosas motrices y sensitivas.* 535
Cap. XXIII. — *Continuación de las terminaciones nerviosas.* — Terminaciones nerviosas sensoriales. — Mucosa olfativa. — Terminaciones acústicas 559
Cap. XXIV. — *Textura fundamental de los centros nerviosos.* — Estructura de la médula espinal. — Estructura de los ganglios sensitivos 598
Cap. XXV. — *Estructura del cerebelo* 634
Cap. XXVI. — *Corteza cerebral fundamental* 652
Cap. XXVII. — *Ganglios simpáticos* 671
Cap. XXVIII. — *Caracteres químicos y fisiológicos del tejido nervioso.* — *Neurogenesis* 683
Desarrollo del tejido nervioso 689
Cap. XXIX. — *Preparación del tejido nervioso.* — Estudio de los nervios. — Estudio de los centros nerviosos. — Métodos de la disociación y de los cortes. — Disociación 716
Método de los cortes 717
Cap. XXX. — *Tejidos compuestos.* — Tejido glandular 737
Cap. XXXI. — *Tejido vascular.* — Variedad capilar 805
Cap. XXXII. — *Tejido piloso y ungueal* 820
Tejido de las uñas 829
Cap. XXXIII. — *Tejido tegumentario.* — Tegumento externo ó cutáneo 831
Mucosas 835
Cap. XXXIV. — *Tejido seroso* 849

Wellcome Library

PRINCIPALES OBRAS DEL AUTOR

Á LA VENTA EN TODAS LAS LIBRERÍAS

Manual de Anatomía patológica general.—Quinta edición, con numerosos grabados. — Precio: 17 pesetas.

Histologie du système nerveux de l'homme et des vertebrés. — Traducción francesa del Dr. Leon Azoulay. Dos volúmenes de gran tamaño, con más de 1.000 grabados, algunos en colores. Precio: 50 francos. — Editeur: Maloine, Paris.

Reglas y consejos sobre investigación biológica.—Precio: 3 pesetas.

Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. Dos tomos con numerosos grabados. — Precio: 12 pesetas.

Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas. — Se publica un tomo anual, donde se contienen comunicaciones originales sobre Histología normal y patológica del sistema nervioso.— *Precio anual de suscripción:* España, 14 pesetas. Extranjero, 15 francos.

30878

BOUND BY
Holder & Sons,
21 KIRKDALE,
SYDENHAM, S.E.